

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Markéta Hegarová

Příspěvek BNP k zpřesnění prognózy nemocných
s pokročilým chronickým srdečním selháním.

Contribution of BNP to prognostic stratification of patients with
advanced heart failure.

Disertační práce

Školitel: Doc. MUDr. Ivan Málek, CSc.

Praha 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 24. 2. 2017

Markéta Hegarová

Identifikační záznam

HEGAROVÁ, Markéta. *Příspěvek BNP k zpřesnění prognózy nemocných s pokročilým chronickým srdečním selháním. [Contribution of BNP to prognostic stratification of patients with advanced heart failure.]*. Praha, 2017, 85s, 2 přílohy. Disertační práce (Ph.D.).

Univerzita Karlova v Praze, 1. Lékařská fakulta, Fyziologický ústav.

Školitel Málek, Ivan.

Poděkování

Svému školiteli panu docentovi MUDr. Ivanu Málkovi děkuji za to, že mne k postgraduálnímu studiu přivedl a velmi trpělivým a kultivovaným způsobem mne vedl. Přednostovi Kliniky kardiologie IKEM panu profesorovi MUDr. Josefu Kautznerovi děkuji za to, že mi studium umožnil. Svému dlouholetému kolegovi MUDr. Milošovi Kubánkovi děkuji za velkou pomoc s přípravou publikací v odborných časopisech. Děkuji svým rodičům Ireně a Zdeňkovi za radost, kterou měli z každého mého pokroku. Děkuji svému manželovi Lubošovi za podporu a všechnu pomoc během studia. Práci věnuji své dceři Adélce, která je mou radostí, smyslem života a ztělesněním naděje a víry v kontinuitu.

V Praze, 24. 2. 2017

Markéta Hegarová

Obsah:

Seznam zkratek.....	3
Souhrn (česky).....	5
Abstract (anglicky).....	6
1. Úvod.....	7
1.1. Patofyziologie chronického srdečního selhání ve zkratce	
1.1.1 Neurohumorální aktivace	7
1.1.2 Remodelace myokardu.....	10
1.2 Pokročilé chronické srdeční selhání	
1.2.1 Patofyziologie a klinický obraz.....	15
1.2.2 Posouzení prognózy a indikace k transplantaci srdce.....	18
1.2.3 Společná srozumitelná řeč pomocí profilů INTERMACS a shrnutí indikací.....	21
1.3 Natriuretické peptidy v patofyziologii chronického srdečního selhání	
1.3.1 Rodina natriuretických peptidů.....	23
1.3.2 C-natriuretický peptid.....	23
1.3.2 ANP a BNP v kontextu teorie fetálního genového programu u srdečního selhání.....	24
1.3.4 Translace ANP a BNP, posttranslační úpravy, sekrece a molekulární formy.....	25
1.3.5 Spouštěcí faktory produkce ANP a BNP.....	28
1.3.6 Receptory natriuretických peptidů.....	28
1.3.7 Degradace natriuretických peptidů.....	30
1.3.8 Biologické účinky ANP a BNP.....	31
1.3.9 Snížená účinnost natriuretických peptidů ve stadiu pokročilého CHSS.....	36
1.3.10 Využití natriuretických peptidů v léčbě srdečního selhání.....	38
1.3.11 Úloha BNP v diagnostice a prognostické stratifikaci nemocných s CHSS.....	39
1.3.12 Klinický výzkum přínosu BNP u nemocných s pokročilým CHSS na našem pracovišti.....	41

2. BNP jako prognostický faktor u nemocných s pokročilým CHSS při vrozených srdečních vadách se systémovou pravou komorou

2.1 Úvod do problematiky

2.1.1 Vrozené srdeční vady s pravou komorou v systémové pozici (SRV)..42

2.1.2 Současné poznatky o roli monitorování BNP u nemocných se SRV..44

2.2 Vlastní příspěvek k problematice

2.2.1 Hypotéza.....46

2.2.2 Pacienti a metodika.....46

2.2.3 Laboratorní metody.....47

2.2.4 Echokardiografie.....47

2.2.5 Statistická analýza.....48

2.2.6 Výsledky.....48

2.2.7 Diskuse.....54

3. Význam monitorování BNP u nemocných s implantovanou levostrannou mechanickou podporou oběhu typu Heart Mate II v ambulantní péči

3.1 Úvod do problematiky

3.1.1 Implantabilní levostranná mechanická srdeční podpora v terapii
terminálního srdečního selhání.....56

3.1.2 Současné poznatky o významu BNP u nemocných s implantovanými
mechanickými podporami.....58

3.2 Vlastní příspěvek k problematice:

Význam monitorování hladin BNP u nemocných s LVAD HM II

3.2.1 Hypotéza.....59

3.2.2 Pacienti a metodika.....59

3.3.3 Laboratorní metody.....61

3.3.4 Statistická analýza.....61

3.3.5 Výsledky.....62

3.3.6 Diskuse.....69

4. Závěr.....73

5. Literatura.....74

Seznam zkratek:

ACE.....	angiotenzin konvertující enzym
ANG II.....	angiotenzin II
ANP.....	atriální natriuretický peptid
ATGL	tuková triacylglycerolová lipáza
ATP.....	adenosin trifosfát
βARK.....	betaadrenergní kináza
BNP.....	mozkový natriuretický peptid
cAMP.....	cyklický adenosin monofosfát
CNP.....	C-natriuretický peptid
CVP.....	centrální žilní tlak
cGMP.....	cyklický guanosin monofosfát
CHSS.....	chronické srdeční selhání
CREB.....	cyclic AMP response element-binding protein
DAG.....	diacylglycerol
DNP.....	D-natriuretický peptid
DPP IV.....	dipeptidylpeptidáza IV
ECM.....	extracelulární matrix
ENaC.....	amilorid senzitivní Na ⁺ kanál ve sběracím kanálu
ERK.....	extracellular signal-regulated kinase
ET-1.....	endotelin-1
FFA.....	volné mastné kyseliny
GATA4.....	transkripční faktor
HFSS.....	heart failure survival score
IDE.....	insulin degradující enzym
IGF-1	inzulinu podobný růstový faktor -1
L- Ca ²⁺	L-typ kalciového kanálu
LK.....	levá komora srdeční
LVAD.....	levostranná mechanická srdeční podpora (left ventricle assist device)
MEF-2.....	transkripční faktor (myocyte enhanced factor – 2)

MMPs.....	metaloproteinázy
NA.....	noradrenalin
NEMK.....	neesterifikované mastné kyseliny
NEP.....	neprilysin
NFAT.....	nukleární faktor aktivovaných T buněk
NF- κ B	nukleární faktor kappa B
NP.....	natriuretické peptidy
NPR-A.....	receptor pro natriuretické peptidy typu A
NPR-B.....	receptor pro natriuretické peptidy typu B
NPR-C.....	receptor pro natriuretické peptidy typu C
OTS.....	ortotopická transplantace srdce
PGE ₁	prostaglandin E ₁
PKA.....	proteinkináza A
PKC.....	proteinkináza C
PKG.....	proteinkináza G
PLC.....	fosfolipáza C
pVO ₂	vrcholová spotřeby kyslíku při spiroergometrii
RAAS.....	renin-angiotenzin-aldosteronový systém
ROC.....	receiver operating characteristics curve
RyR.....	ryanodinový receptor
SERCA.....	sarkoplazmatická ATPáza
SNS.....	sympatický nervový systém
SRV.....	pravá komora v systémové pozici
TAG.....	triacylglyceroly
TGF- β	růstový faktor (transforming growth faktor β)
TIMPs.....	tkáňové inhibitory metaloproteináz
TNF α	tumor necrosis factor α
TRPC.....	transient receptor potential cation channel
VEGF.....	vaskulární endotelový růstový faktor
VE/VCO ₂ slope	směrnice závislosti ventilace na vydechovaném množství CO ₂

Souhrn:

Plazmatické hladiny B-natriuretického peptidu (BNP) jsou silným nezávislým prediktorem prognózy pacientů s pokročilým srdečním selháním (CHSS). Význam stanovení tohoto biomarkeru byl dosud dobře doložen pouze u pacientů s obvyklými příčinami CHSS jako je dilatovaná nebo ischemická kardiomyopatie.

Stanovili jsme si hypotézu, že se BNP ukáže jako silný prognostický marker i u raritní skupiny nemocných s pokročilým CHSS s vrozenou srdeční vadou (VVS) s pravou komorou srdeční v systémové pozici (SRV). Druhou hypotézou bylo, že monitorování BNP u nemocných s implantovanou mechanickou srdeční podporou (LVAD) typu Heart Mate II (HM II) dokáže odhalit závažné komplikace, které negativně ovlivňují prognózu.

Provedli jsme retrospektivní analýzu souboru 28 konsekutivních pacientů s těžkou systolickou dysfunkcí SRV ($EF\ 23\pm6\%$), kteří byly v období od května 2007 do října 2014 referovány do kardiocentra s úvahou o indikaci k OTS. V průběhu sledování (medián 29 měsíců, interkvartilové rozpětí 9-50) dosáhlo 14 pacientů primárního cíle (úmrtí, urgentní OTS, potřeba implantace LVAD). Tyto události jsme považovali za ekvivalent konečného stadia syndromu. Použitím ROC analýzy jsme identifikovali vstupní hodnotu BNP jako nejsilnější prediktor prognózy s plochou pod křivkou (AUC) 1.00, následovaný funkční třídou NYHA III nebo IV (AUC 0.98), anamnézou dekompenzace CHSS v posledním roce (AUC 0.96) a systolickou dysfunkcí subpulmonální komory (AUC 0.96). Nalezená hladina BNP nejlépe předpovídající nepříznivou prognózu byla $\geq 618\text{ng/l}$.

Pro ověření významu BNP v odhalení závažných komplikací u pacientů s LVAD jsme realizovali prospektivní studii souboru 136 konsekutivních pacientů, kterým byla od února 2008 do konce listopadu 2015 implantována LVAD HM II a byli propuštěni do ambulantní péče. V průběhu sledování (medián 298 dní) zemřelo 6 nemocných, 21 (15%) prodělalo závažnou komplikaci a 38 (28%) méně závažnou komplikaci. 77 nemocných mělo nekomplikovaný průběh. Hladiny BNP byly měřeny před implantací LVAD a po propuštění z nemocnice každé dva měsíce v rámci klinických kontrol. Dynamika změn BNP i nejvyšší hodnota v době události (BNP max) vykazala dobrou předpovědní hodnotu v detekci komplikace. Významnost BNP max v odhalení komplikací stoupala postupně od infekční komplikace, srdečního selhání až po odhalení trombózy čerpadla (AUC 0.68 vs. 0.75 vs. 0.93).

Výsledky těchto studií potvrdily stanovené hypotézy. Nalezené hodnoty BNP lze interpretovat pouze v kontextu klinického stavu a dalších prognostických ukazatelů a to výhradně pro podobně definované specifické skupiny nemocných.

Abstract:

Plasma levels of B-type natriuretic peptide (BNP) are a strong and independent predictor of prognosis in patients with advanced heart failure (CHF). However, the importance of this biomarker has been documented only in CHF of common causes such as dilated or ischemic cardiomyopathy.

We hypothesized that BNP can serve as a strong predictor of end-stage CHF in group of patients with advanced CHF due to congenital heart disease (CHD) with the right ventricle in systemic position (SRV). The second hypothesis was that BNP monitoring in patients with implanted left ventricular assist device (LVAD) Heart Mate II could detect serious complications which negatively affect prognosis.

We performed a retrospective analysis in 28 consecutive patients with severe systolic dysfunction of the SRV (ejection fraction $23 \pm 6\%$) evaluated as heart transplant (HTx) candidates between May 2007 and October 2014. During a median follow-up of 29 months (interquartile range, 9-50), 14 pts reached primary endpoints of the study (death, urgent HTx, and LVAD implantation). We have considered these events equivalent to end-stage CHF. Using ROC analysis, we identified the first measured value of BNP as the strongest predictor of prognosis with the area under the curve (AUC) of 1.00, followed by the New York Heart Association functional class class III or IV (AUC 0.98), decompensated CHF in the last year (AUC 0.96), and systolic dysfunction of the subpulmonal ventricle (AUC 0.96). BNP levels $\geq 618\text{ng} / \text{l}$. were associated with adverse prognosis.

We also performed a prospective cohort study in 136 consecutive out-patients who underwent implantation of LVAD between February 2008 and November 2015. We aimed to evaluate the impact of BNP on detection of serious complications. During the follow-up (median of 298 days), 6 (0%) patients died, 21 (15%) experienced severe adverse event requiring hospitalisation, and 38 (28%) had less serious complications. A total of 77 patients had an uneventful course. BNP levels were assessed before LVAD placement and then post-implant every 2 months during clinical check-ups. The dynamics of BNP changes and its highest value at the time of clinical event /or the the highest value in individuals with event-free follow-up (BNP max) showed a good predictive value in the detection of complications. The performance of BNP max improved from the detection of infection to diagnosis of CHF and culminated in individuals with pump thrombosis (AUC 0.68 vs. 0.75 vs. 0.93).

The results of these studies confirmed our hypotheses. However, BNP values can be interpreted only in the context of clinical status and other prognostic indicators, and solely for similarly defined specific groups of patients.

1. Úvod

1.1 Patofyziologie chronického srdečního selhání ve zkratce

1.1.1 Neurohumorální aktivace

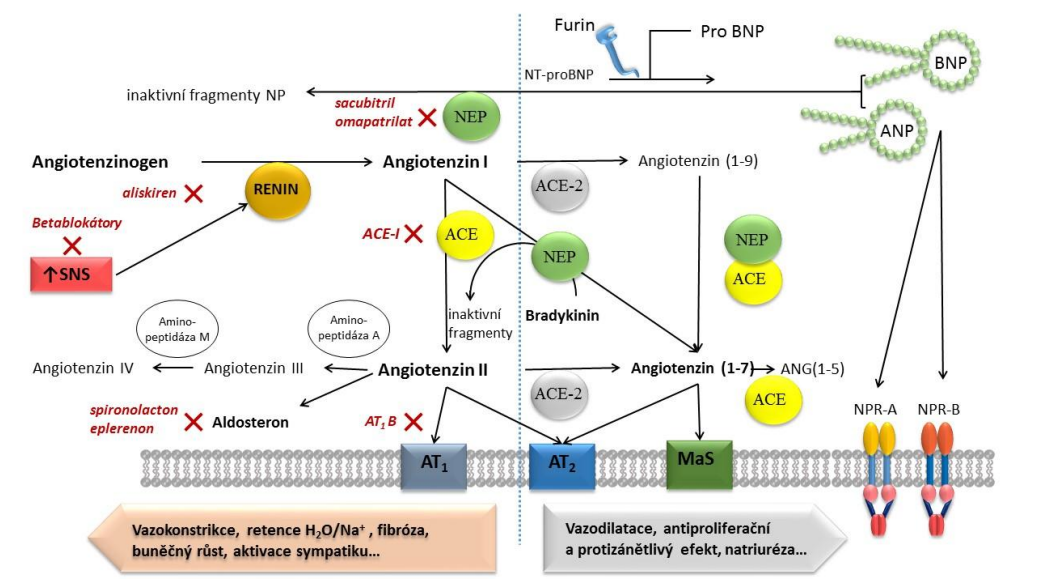
CHSS definujeme jako stav, kdy srdce není schopno při normálním žilním návratu čerpat krev v souladu s potřebami metabolismu tkání, nebo je toho schopno jen při zvýšení plnicích tlaků komor. Na počátku syndromu nejčastěji stojí pokles srdečního výdeje, který vede k nedostatečnému plnění arteriálního řečiště a hypoperfuzi tkání. Tento stav je rozpoznán systémem periferních receptorů a jejich aferentní signály vedou k **aktivaci neurohumorálních systémů**, které mají v krátkodobém horizontu udržet čerpací funkci srdce a krevní oběh.

K nejdůležitějším dosud poznaným aktivovaným cestám patří **renin-giotenzin-aldosteronový systém** (RAAS) (*obr. č. 1*) a **systém sympatoadrenální** (SNS) (*obr. č. 2*). Dochází také k neosmotickému uvolňování **vazopresinu**, sekreci **endotelinu**, **cytokinů** a **růstových faktorů**. Produkty neurohumorální aktivace spouštějí signální cesty, jejichž výsledkem je systémová vazokonstrikce, retence sodíku a vody s cílem zvýšení náplně krevního řečiště a udržení krevního tlaku. Protiváhu představují systémy působící natriureticky a antiremodelačně. Nejvýznamnějším dosud poznaným protektivním systémem jsou **natriuretické peptidy** (NP).

Aktivace sympatiku spouští adaptační mechanismy určené k udržení čerpací funkce srdce. Zvyšuje se srdeční frekvence, síla a rychlost kontrakce myokardu, stoupá předtížení, uplatňuje se Frank-Starlingův mechanismus s cílem zvýšit tepový objem a srdeční výdej. Stimulací β_1 receptorů na kardiomyocytech působí převážně noradrenalin (NA) pozitivně inotropně, chronotropně, dromotropně a bathmotropně a krátkodobě tak jeho vysoké hladiny přinášejí hemodynamický benefit.

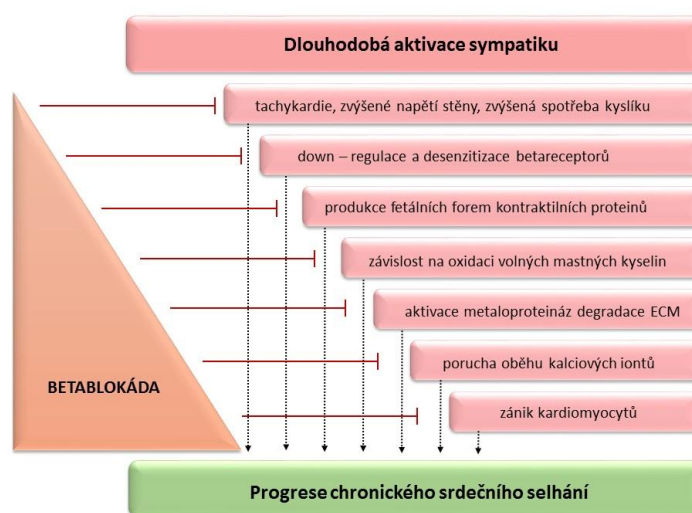
Tyto fylogeneticky prastaré kompenzační mechanismy se uplatňují v časně fázi selhání a jsou záchrannou reakcí pro udržení integrity oběhu v situacích nedostatečné arteriální náplně. Pokud však působí dlouhodobě, vedou k rozvoji syndromu CHSS. Chronická aktivace sympatiku vede cestou aktivace převážně β_1 receptorů k snížení hustoty betareceptorů a poruše a změnám intracelulárního přenosu signálu. Produkty aktivace neurohumorálních systémů působí dlouhodobě mitogenně, proapoptoticky, prozánětlivě a prohlubují oxidační stres. V horizontu

týdnů až měsíců tak dochází k **progresivní remodelaci myokardu** a rozvoji těžké systolické dysfunkce levé komory (LK) (Hegarová M., 2012).



Obrázek č. 1: Systém RAAS a NP. Hypoperfúze ledvin, stimulace $\beta 1$ adrenergických receptorů v juxtaglomerulárním aparátu a snížená koncentrace natriových iontů v tubulární tekutině vyvolá sekreci reninu do cirkulace. Účinkem reninu vzniká z angiotenzinogenu angiotenzin I (ANG I), který je účinkem angiotenzin-konvertujícího enzymu (ACE) štěpen na angiotenzin II (ANG II). ANG II se spolu s aldosteronem podílí na regulaci systémového tlaku a objemu tělních tekutin. Rozhodující úlohu v patofyziologii CHSS hraje lokální aktivace RAAS. V myokardu je renin vychytáván pomocí receptorů, částečně je internalizován a podílí se na vzniku intracelulárního ANG II. Významný podíl ANG II v intersticiu vzniká z ANG I non-ACE cestou (působením chymázy, katepsinu G, toninu, kallikreinu a trypsinu). ANG II působí jako vazokonstriktor, vede k retenci natria a vody, podílí se na aktivaci sympatiku, prostřednictvím presynaptických AT_1 receptorů zvyšuje uvolňování NA z nervových zakončení, vede k produkci aldosteronu, stimuluje tvorbu vazopresinu a endothelinu. Způsobuje remodelaci cévní stěny a myokardu. Podílí se významně na hypertrofii myocytů, apoptóze a na fibróze myokardu, zvyšuje oxidační stres, zánětlivou aktivaci, narušuje fibrinolýzu a komplexním mechanismem negativně ovlivňuje homeostázu extracelulární matrix. Škodlivé účinky ANG II jsou zprostředkovány AT_1 receptory, které patří do skupiny receptorů asociovaných s Gq proteiny (obrázek č. 3). Protichůdně působí stimulace AT_2 receptorů, které jsou asociovány s Gi proteiny. Trvale vysoké koncentrace ANG II v myokardu působí down-regulaci AT_1 receptorů, zejména na povrchu fibroblastů, která je zřejmě obranným mechanismem. ANG II je štěpen neutrální endopeptidázou neprilysinem (NEP) za vzniku heptapeptidu Angiotenzinu (1-7), který se mimo jiné váže na MaS (oncogene) receptor asociovaný s G proteinem a zprostředkovává protektivní účinky Angiotenzinu 1-7, které jsou převážně zcela protichůdné ve srovnání s angiotenzinem II. Angiotenzin 1-7 působí vazodilatačně, má antiremodelační efekt, brání fibróze i hypertrofii a působí antiarytmicky. Produkt štěpení angiotenzinu II aminopeptidázou A - heptapeptid angiotenzin III (angiotensin 2-8) působí také cestou AT_1 receptoru vazokonstričně, uvolňuje vazopresin a stimuluje vyplavování aldosteronu ve stejné míře jako jeho prekurzor. Štěpením angiotenzinu III pomocí aminopeptidázy M vzniká hexapeptid angiotensin IV (angiotensin 3-8), který také vykazuje vazokonstriční efekt. Syntéza aldosteronu v reakci na sníženou perfuzi

ledvin probíhá především v zóně glomerulosa kůry nadledvin. Nejsilnějšími regulačními faktory syntézy jsou ANG II, adrenokortikotropní hormon a kalémie, slaběji ovlivňují syntézu katecholaminů, vazopresin, endotelin a prolaktin. Inhibičně působí na syntézu aldosteronu natriuretické peptidy, heparin a digoxin. Aldosteron působí na cílové buňky prostřednictvím intracelulárních mineralokortikoidních receptorů, které po vazbě s aldosteronem pronikají do jádra a moduluji proteosyntézu. Aldosteron zvyšuje intravaskulární objem stimulací resorpce sodíku s následnou retencí vody v distálním nefronu provázenou ztrátou kalia a magnézia. Významně se podílí také na remodelaci tkání ve smyslu fibrotizace a podílí se na remodelaci cévní stěny, ovlivňuje endoteliální funkce a působí vazokonstrikčně. Stejně jako ANG II působí chemotakticky na žánětlivé buňky a zvyšuje produkci cytokinů. Změnou mineralogramu a fibrotizací myokardu působí proarytmogenně. U CHSS se aldosteron také podílí na převaze sympatiku inhibicí zpětného vychytávání noradrenalinu v nervových zakončeních a negativně ovlivňuje baroreflexní odpověď. Systém **natriuretických peptidů (NP)** představuje protíváhu systémů SNS a RAAS jak v účincích na vodní a elektrolytové hospodářství organismu, tak v ovlivnění cirkulujícího objemu a cévního tonu. V delším časovém výhledu působí NP také proti remodelaci myokardu a cévní stěny.



Obrázek č. 2: Dlouhodobá adrenergická aktivace u CHSS. Následkem je snížená odpověď selbávajícího myokardu (tedy adenylátcyklázového systému) na stimulaci β receptorů NA, jde o tzv. **homologní desenzitizaci**. Snižuje absolutní počet β receptorů (převážně β_1) tzv. „down regulation“ a zároveň klesá citlivost zbylých β receptorů k NA. Receptor je v tomto případě přítomen, ale není schopen přijímat ligand nebo není v aktivním stavu. Fosforylaci β receptoru dochází k jeho odpojení od adenylátcyklázového systému – tzv. „uncoupling“. V pokročilé fázi syndromu se posunuje rovnováha G stimulačních a G inhibičních proteinů. Následuje komplexní změna reaktivity adenylátcyklázového systému vůči jiným agonistům, **heterologní desenzitizace**. Jedním z následků těchto změn je snížení koncentrace cAMP v selbávícím srdci, důsledkem je snížená kontraktilní rezerva, porucha synergie kontrakce a pohotovost k arytmiím vlivem porušené koordinace iontových přesunů. Intracelulární klíčky receptorů, zvláště ve fosforylovaném stavu, mohou interagovat s řadou dalších proteinů, které ovlivňují lokalizaci adrenoreceptorů, mění jejich konformaci a fyzikální vlastnosti a také fungují jako stavební proteiny vázající adrenoreceptor k různým efektorovým systémům. Typickým příkladem je asociace s β arrestiny, která je spojena s internalizací β receptorů, arrestiny zároveň cestou specifických kináz realizují **mitogenní a proapoptický účinek**. Proapoptický efekt stimulace β_1 adrenergických receptorů je způsoben zvýšením Ca^{2+} iontů intracelulárně aktivací L-kanálu a také aktivací kalcineurinu (Saito S 2000). Často

diskutovaný dlouhodobý tzv. „biologický efekt“ betablokády spočívá jednak v takzvané „up-regulaci“ β receptorů, tedy zvýšení jejich hustoty i senzitivity a na druhé straně v zásahu do fetálního genového programu selhávajícího myokardu.

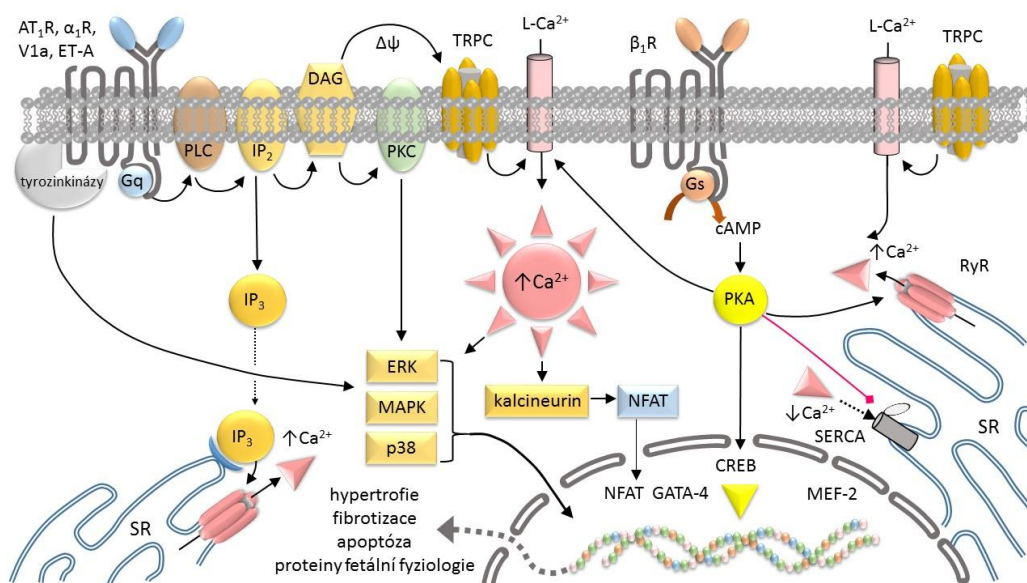
1.1.2 Remodelace myokardu

Myokard je i za fyziologických podmínek vystaven velké zátěži. Vzhledem ke značnému mechanickému opotřebením jsou kardiomyocyty vybaveny velkou genetickou plasticitou umožňující reagovat na různé formy zátěže. K obnově kontraktilních vláken a buněčných organel dochází pravidelně a je tak zajišťován bezchybný náročný „provoz čerpadla“. Kardiomyocyty jsou však postnatálně terminálně diferencované buňky neschopné dělení a jejich počet je konečný. Ztráta kardiomyocytů je tak definitivní. Spontánní regenerace myokardu cirkulujícími zárodečnými buňkami je minimální a z klinického hlediska zcela zanedbatelná.

V reakci na přetížení, oxidační stres, zánět a cirkulující neurohormony, tzv. biomechanické stimuly, dochází v kardiomyocytech k spuštění komplexu stresových signálních cest, které aktivují v jádru sadu transkripčních faktorů, koregulátorů a mikro RNA. Výsledkem je změna v genové expresi kardiomyocytů. Molekulární změny pozorované při procesu patologické remodelace myokardu se podobají procesům v období fetálního vývoje srdce. Navíc mnoho dosud poznáných fenotypových změn myokardu v průběhu **patologické remodelace** je prokazatelně výsledkem reaktivace genů fetální fyziologie. Výsledný fenotyp kardiomyocytů je podobný fetálnímu a probíhající změny genové exprese zapadají do tzv. **„fetálního programu přestavby myokardu“**. Tento program je klíčový pro rozvoj maladaptivních remodelačních změn a pro patogenezi syndromu chronického srdečního selhání jak u lidí, tak u zvířecích modelů (*Dirkx E. et al., 2013*). Následkem je jednak hypertrofie kardiomyocytů, jejich zánik, změna ve struktuře kontraktilních proteinů, změny v membránovém transportu a kompartmentalizaci kalciových iontů, metabolismu myokardu a ve složení extracelulární matrix (ECM). Důležitým aspektem patologické remodelace myokardu je fakt, že všechny složky myokardu jsou nejprve cílovými strukturami produktů neurohormonální aktivace a následně samy produkují růstové faktory, proapoptoticky a mitogenně působící komponenty RAAS systému, natriuretické peptidy a cytokiny. Spolupodílejí se tak na progresivní remodelaci vlastní tkáně.

Hypertofie (koncentrická remodelace) je kompenzačním mechanismem v reakci na zvýšené mechanické napětí, které roste s dilatací a plnicím tlakem komor. Nepoměr mezi vyššími energetickými nároky hypertrofické svaloviny a

sníženou dodávkou kyslíku způsobenou zvýšeným diastolickým tlakem a nedostatečnou kapilární sítí pak vede k ischemii, zvýšené pohotovosti k arytmiím a k dalším strukturálním změnám ve smyslu ztráty ušlechtilého tvaru komory. Mechanické napětí kardiomyocytu samo o sobě aktivuje produkci transkripčních faktorů, nepřímo pak působí hypertrofii aktivací humorálních působků. **Obrázek č. 3** ukazuje hlavní signální cesty, kterými vede aktivace produktů neurohumorální aktivace k fenotypu remodelované tkáně.



Obrázek č. 3: Signální cesty remodelace myokardu. Mezi působky, které způsobují fenotyp remodelované tkáně patří angiotenzin II (receptor AT_1R), endothelin-1 (receptor $ET-A$) a vazopresin (receptor $V1aR$), které aktivují receptor spážený s G_q proteinem. Stejným mechanismem funguje i efekt noradrenalinu obsazením α_1 receptoru (α_1R). Výsledkem navázání ligandu na receptor spážený s G_q proteinem je aktivace v membráně vázané fosfolipázy C (PLC). Aktivovaná PLC hydrolyzuje v membráně vázaný fosfatidylinositolbifosfát (IP_2) za vzniku druhých posílů: diacylglycerolu (DAG) a 1, 4, 5- inositoltrifosfátu (IP_3). IP_3 má vázebné místo na sarkoplazmatickém retikulu (SR), kde stimuluje uvolnění kalciových iontů. Kalciové ionty pak aktivují kalcium-kalmodulinové podjednotky enzymů, např. Ca^{2+} /calmodulin-dependentní kinázy II a řady dalších proteinkináz. DAG aktivuje proteinkinázu C (PKC). PKC mimo jiné fosforyluje mitogenní kinázy. Dalším mechanismem remodelace je aktivace receptorových tyrozinkináz. Typickým receptorem spáženým s tímto systémem je receptor pro fibroblastový růstový faktor, tyrozinkinázy však mohou být asociovány i s ostatními receptory spáženými s G proteiny, na obrázku je jako příklad asociace s G_q receptorem.

Výsledkem tyrozinkinázové cesty je mimo jiné fosforylace mitogeny aktivované proteinkinázy (MAPK), stresem aktivované kinázy, proteinu p38, ERK (extracellular signal-regulated kinase) a dalších kináz, které se po aktivaci translokují do jádra a ovlivňují transkripci příslušných genů. Obsazení β_1 receptoru (β_1R), typický noradrenalinem aktivuje α_s podjednotku Gs proteinu, která aktivuje adenylátcyklázu s následným zvýšením koncentrace cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP). Cyklický AMP vazbou na regulační podjednotky proteinkinázy A (PKA) aktivuje katalytické části. Katalytická podjednotka PKA vstupuje do jádra a fosforyluje

transkripční faktory, typicky **CREB** (cyclic AMP response element-binding protein). Důležitým mechanismem, kterým aktivace β_1R způsobuje remodelaci je zvýšení intracelulární koncentrace vápníkových iontů. PKA jednak aktivuje L-typ kalciového kanálu (**L- Ca^{2+}**) kanálu, který působí vstupem kalcia jako „žážeňová jiskra“ pro kalciový kanál ryanodinového typu (**RyR**), prostřednictvím kterého se ze sarkoplazmatického retikula vyplaví velké množství kalciových iontů do cytoplazmy. Zvýšení koncentrace kalcia je nutné pro aktivaci kontraktilních proteinů, dlouhodobý „overload“ však vede k remodelaci. Navíc PKA fosforyluje fosfolamban, čímž udržuje sarkoplazmatickou ATPázu (**SERCA**) v inaktivovaném stavu a brání tak návratu kalciových iontů zpět do SR. Koncentrace RyR v SR kardiomyocytů vystavených stresu a humorálním působkům klesá. Počet a aktivita L- Ca^{2+} stoupá. Kardiomyocyt se stává závislejším na směně kalciových iontů s extracelulárním prostorem, což zapadá do konceptu fetální fyziologie. Důsledkem nitrobuněčného kalciového „overloadu“ je změna buněčného fenotypu aktivací kalcineurinu a následně transkripčních faktorů například **NFAT** (nukleární faktor aktivovaných T buněk), **MEF-2** (myocyte enhanced factor – 2), a mitogenních kináz. Na změně buněčného fenotypu se podílí také specifický kanál z rodiny **TRPC** (transient receptor potential cation channels). Tento kationtový kanál v srdci funguje spíše jako aktivátor L- Ca^{2+} , zhoršuje tak kalciový „overload“.

Kardiomyocyty zanikají v průběhu remodelace myokardu a během vývoje srdečního selhání několika způsoby. Dosud nejvíce objasněnými procesy, které vedou ke ztrátě kontraktilních buněk jsou apoptóza, nekróza a autofagie (Dorn G.W., 2009). **Nekróza** kardiomyocytů je iniciována nejčastěji ischemií. Typicky k nekróze kardiomyocytů dochází při koronární příhodě, myokarditidě, toxickém působení adriamycinu nebo alkoholu. V případě hypertrofie myokardu dochází k nekróze z důvodu anoxie při hypertroficko-kapilárním nepoměru.

Apoptózu kardiomyocytů u CHSS spouští zvýšené napětí stěny selhávající komory, dále katecholaminy působením na β -receptory kardiomyocytů, angiotenzin II (ANG II), cytokiny a volné kyslíkové radikály. Lze také říci, že apoptózu spouští excesivní stimulace terminálně diferencovaných kardiomyocytů růstovými faktory, které jsou za fyziologické situace důležité k udržení svalové homeostázy, v rámci CHSS však dochází k jejich nadměrné produkci. Četnost apoptóz je u pokročilého srdečního selhání pod 1 %, není tedy jasná míra významnosti apoptózy v procesu remodelace. Organely a dále existující proteiny jsou degradovány lysozomy **autofagií**. Tato forma programované smrti se projeví likvidací důležitých organel a těžkou poruchou buněčných funkcí. Proces byl pozorován jak u selhávajícího, tak u hypertrofického i chronicky ischemického myokardu.

V selhávajícím myokardu dochází ke zvýšené expresi fetálních genů, které vedou ke změnám ve **složení kontraktilních proteinů** kardiomyocytů. V1 izoforma myozinu, která obsahuje dva těžké α řetězce s vysokou ATPázovou aktivitou je nahrazována fetální formou myozinu V3, která obsahuje 2 těžké β

řetězce s nízkou ATPázovou aktivitou. Dochází i ke změnám lehkých řetězců myozinu a změnám izoform troponinu I a T. Předpokládají se i změny citlivosti kontraktilních bílkovin ke kalcii.

Fetální genový program selhávajících kardiomyocytů ovlivňuje **transport kalciových iontů**. Kontrakce a relaxace fetálního myokardu závisí mnohem více na přesunech kalciových iontů mezi extracelulárním prostorem a cytosolem než na směně kalciových iontů mezi cytoplazmou a sarkoplazmatickým retikulem (SR) (Mishra S. et al., 2002; 2005) (**obrázek č. 3**).

Srdce má pro své funkce velkou a trvalou potřebu vysokoenergetických fosfátů. Naprostá většina adenosintrifosfátu (ATP) pochází z oxidativní fosforylace v mitochondriích. Zdravý myokard pokrývá energetické potřeby za bazálních aerobních podmínek především z volných mastných kyselin (FFA) a triacylglycerolů. Pro pokročilé CHSS je však charakteristický **zvýšený podíl utilizace glukózy**, jedná se pravděpodobně o adaptační mechanismus na sníženou dodávku kyslíku, který je v souladu s konceptem programu fetální genové exprese. Na druhou stranu dochází u CHSS vlivem adrenergní aktivace (Lamba S., Abraham W.T., 2000), vysoké koncentrace IL-6 (interleukinu -6), TNF α (tumor necrosis factor α) (von Haebling S. et al., 2009) a aktivace systému NP (Sengenes C. et al., 2003) k zvýšenému uvolňování FFA z tukové tkáně. Díky aktivaci hormon-senzitivní lipázy (HSL) a tukové triacylglycerolové lipázy (ATGL = adipose triglyceride lipase) je tak zvýšena koncentrace FFA v krvi. Cirkulující FFA blokují transport glukózy do svalů a zvyšují glukoneogenezi, pokud je přítomna porucha inzulinové sekrece, dochází k hyperglykemii. Tyto změny spolu s celkovou zánětlivou odpovědí mohou vyústit v inzulinovou rezistenci. Zvýšená hladina FFA zasahuje také do mitochondriálních funkcí. Dochází k produkci ROS (reactive oxygen species), zvyšuje se mitochondriální a cytosolová koncentrace sodíku a kalcia, což dále poškozuje funkci srdečního svalu. Navíc dochází vlivem zvýšené koncentrace FFA k poruše přesunů protonů v závislosti na produkci ATP v mitochondriích (uncoupling), což má za následek menší energetickou efektivitu β oxidace. Výsledkem jsou snížené zásoby energie v selhávajícím myokardu, snížená koncentrace ATP a fosfokreatinu (Ashrafian H. et al., 2007)

Přestože kardiomyocyty tvoří většinu objemu srdečního svalu, více než dvě třetiny buněk v srdečním svalu představují endoteliální buňky, fibroblasty a pericyty. Buněčné elementy jsou zapojeny do komplexní sítě ECM, která je

nezbytná k udržení normální geometrie a funkce myokardu. V reakci na neurohumorální aktivaci se **mění složení ECM**, absolutní množství a poměr jednotlivých složek, dochází k přeskupení stávajících struktur. Jednotlivé složky ECM nejsou jen pasivně měněny, v různé míře se přímo na remodelaci myokardu podílejí jako modulátory řady signálních cest. Procesy v ECM původně zaměřené na udržení integrity a funkce srdečního svalu tak přispívají dlouhodobě velkou měrou k progresivnímu zhoršování remodelace a hemodynamiky (Hegarová M. et al., 2015).

Hlavním procesem je zvyšující se podíl vaziva v srdeční tkáni. Důvodem je jednak stimulace diferenciací fibroblastů v myofibroblasty a nerovnováha v syntéze a degradaci složek ECM a jejich depozice při porušené rovnováze mezi aktivitou metaloproteináz (MMPs) a jejich tkáňových inhibitorů (TIMPs).

Hlavními stimuly diferenciací a sekreční aktivity myofibroblastů jsou produkty neurohumorální aktivace (transforming growth faktor β (TGF- β), ANG II, aldosteron, endotelin-1 a TNF α). Výsledný obraz a míra myokardiální fibrózy závisí na typu poškození a délce trvání neurohumorální aktivace. Proliferace fibroblastů a zvýšená produkce vaziva vede k rozpojení kardiomyocytů a snížení hustoty kapilár se sníženou difuzí kyslíku. Zvýšené množství kolagenu zapříčiňuje snížení poddajnosti remodelovaného myokardu, poruchu diastolické funkce a vyšší pohotovost k arytmiím. Degradace myokardiálního kolagenu vede ke snížení tuhosti a dilataci myokardu.

ECM selhávajícího myokardu obsahuje matricelulární proteiny (Frangogiannis N.G., 2012), makromolekuly, které nemají strukturální funkci, interagují však s buněčnými receptory, růstovými faktory a proteázami. V dospělosti se za fyziologických okolností v myokardu prakticky nevyskytují, jsou exprimovány během embryonálního vývoje, kdy modulují organogenezi. V selhávajícím dospělém myokardu ovlivňují reparační změny. Modulují změnu organizace matrix a migraci, proliferaci, adhezi a metabolismus buněk. Při tlakovém přetížení mohou matricelulární proteiny modulovat cytokiny a růstové faktory ovlivňující hypertrofii myocytů, stavbu ECM a aktivitu fibroblastů a zánětlivých buněk. Mezi dosud známé matricelulární proteiny patří tenascin-C, tenascin-X, osteonektin, osteopontin, trombospondin-1 a trombospondin-2 a trombospondin-4, SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine), periostin, hevin. Mezi proteiny, které vykazují některé matricelulární vlastnosti patří fibulin-5, galectiny a další.

1.2 Pokročilé chronické srdeční selhání

1.2.1 Patofyziologie a klinický obraz

Proces postupné přeměny struktury a funkce myokardu - progresivní remodelaci - lze významně ovlivnit kombinací farmak (**obr. č. 1 a 2**) a nefarmakologickými léčebnými postupy. Úspěch terapie závisí na její intenzitě, stadiu CHSS, ve kterém je zavedena a také na příčině CHSS. Všechny současné léčebné možnosti CHSS, které příznivě ovlivňují prognózu nemocných, zasahují svými účinky do patofyziologie remodelace myokardu. K účinným farmakoterapeutickým postupům patří blokáda RAAS systému a betablokátory. Z nefarmakologických léčebných metod ovlivňuje remodelaci myokardu srdeční resynchronizační léčba, korekce chlopenních vad a implantace mechanických srdečních podpor (Hegarová M., Málek I., 2013).

Pokročilé fáze syndromu CHSS charakterizuje právě vyčerpání možností léčby. Patofyziologické procesy, které probíhají v terminálních fázích syndromu neumíme kauzálně ovlivnit (Chung E.S. et al., 2003). Vyvine se katabolický stav se selháním všech orgánů a proces nezadržitelně vede ke smrti.

Progredující změna tvaru, velikosti a čerpací funkce srdce vede k změnám hemodynamiky a spolu s **excesivní produkcí cytokinů** následně k poruše funkce ostatních orgánů (**obr. č. 4**). Míra produkce cytokinů je úměrná pokročilosti CHSS. Již na počátku syndromu je TNF- α produkován myokardem, váže se na receptory kardiomyocytů, má negativně inotropní efekt, vede k hypertrofii a indukuje apoptózu, podílí se také na změnách ECM. V časných fázích aktivuje metaloproteinázy a přispívá k dilataci komor, dlouhodobá aktivace podporuje fibrotizaci cestou aktivace tkáňového inhibitoru metaloproteináz. V pokročilých fázích CHSS jsou důležitým producentem cytokinů nejen kardiomyocyty, ale i hepatocyty, pneumocyty a endoteliální buňky postižených orgánů.

Vysoký plicní tlak v LK způsobuje **postkapilární plicní hypertenzi**, charakterizovanou vysokým tlakem v plicnici a v zaklínění. Vazokonstrikce plicních arteriol v reakci na zvýšený intraluminární tlak představuje reverzibilní složku prekapilární plicní hypertenze. Později dochází ke strukturálním změnám stěny plicních kapilár a rozvíjí se „fixovaná“ prekapilární složka plicní hypertenze charakterizovaná vysokou hodnotou transpulmonálního gradientu a vysokou plicní

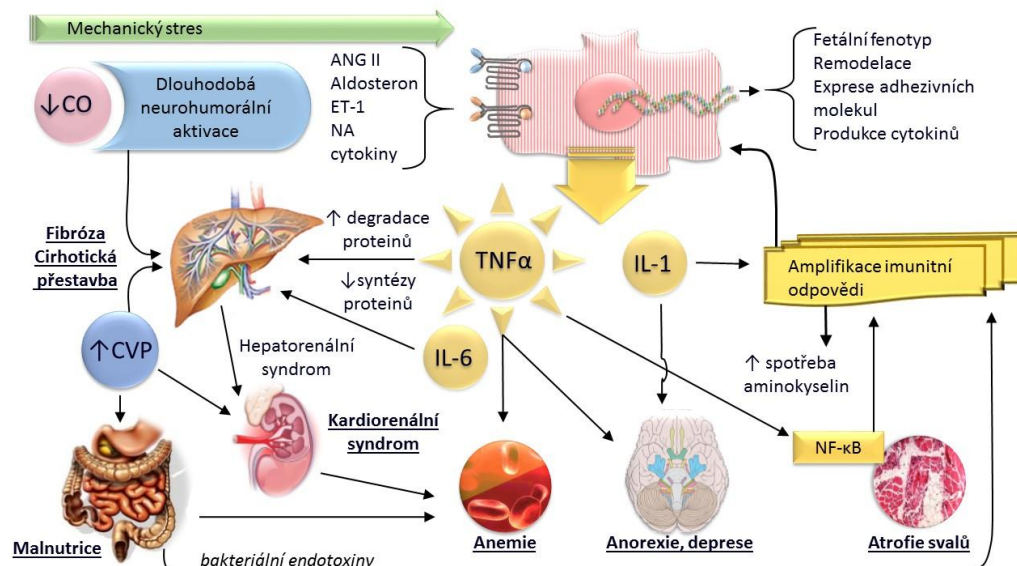
arteriolární rezistenci. Tlakové přetížení při plicní hypertenzi přispívá k rozvoji **selhání pravé komory** (PK). Remodelaci PK nezávisle na příčině provází rozvoj regurgitace na trikuspidální chlopni, což dále zhoršuje hemodynamickou situaci. Dlouhodobé zvýšení centrálního žilního tlaku a intraabdominálního tlaku je nejspíše hlavním důvodem progredující poruchy ledvinových a jaterních funkcí a velkou měrou se podílí na vzniku a rozvoji kardiální kachexie.

Produkty aktivace RAAS (zejména ANG II) iniciují oxidační stres s poškozením endotelových, svalových i tubulárních buněk ledvin, později spolu s cytokiny podporují progresivní fibrotizaci parenchymu. Nízký minutový výdej však není hlavní příčinou progresivní renální poruchy, za progresivní pokles vylučovací funkce při rozvinutém **chronickém kardiorenálním syndromu** je zodpovědný dlouhodobě zvýšený plnicí tlak PK (Bock J. S., Gottlieb S. S., 2010). Renální poruchu prohlubuje také farmakoterapie pokročilého CHSS, zejména vysoké dávky diuretik. Dalším mechanismem, jak snížení glomerulární filtrace přispívá k progresi syndromu pokročilého CHSS, je snížené vylučování katecholaminů postiženými ledvinami. V pokročilých fázích syndromu CHSS nalézáme u téměř 40% nemocných významné snížení glomerulární filtrace.

Vysoký hepatální žilní tlak se přenáší do sinusoid, rozšiřují se sinusoidální fenestrace a do Disseho prostoru proniká tekutina s vysokým obsahem bílkovin, navíc hepatocyty zvětšují svůj objem. Útlak žlučových kanálků a duktů je příčinou **intrahepatální cholestázy** (Nikolaou M. et al., 2013). Městnání v játrech zhoršuje také centrilobulární hypoxii s nálezem zvýšených transamináz. Vysoký CVP a mediátory fibrotizace (ANG II, aldosteron, cytokiny) zapříčiňují přestavbu jaterního parenchymu. Histologickým obrazem je různá míra fibrózy a v extrémních případech až obraz kardiální cirhózy jater. V terminálním stadiu nalézáme těžkou poruchu syntetických funkcí jater, poruchu koagulace, hypoalbuminémii a nízkou hladinu cholinesterázy.

V pokročilých fázích syndromu CHSS nalézáme vysoké koncentrace TNF- α a interleukinů nezávisle na primární příčině srdečního selhání. Produkty systémové imunitní odpovědi zasahují do rovnováhy neuropeptidů v hypotalamu ovlivňujících chuť k jídlu, výsledkem je převaha anorexigenních. **Deprese**, městnání v játrech a potřeba velkých dávek diuretik anorexii dále prohlubují (Tousoulis D. et al., 2010). K malabsorpci a **nechutenství** se přidává v terminální fázi CHSS cytokiny mediovaná porucha proteosyntézy, zvýšená likvidace proteinů a zvýšená spotřeba

aminokyselin při excesivní imunitní stimulaci. K proteolýze ve svalové tkáni vede hlavně oxidačním stresem vystupňovaná aktivita systému vrozené imunity prostřednictvím NF- κ B (nukleární faktor kappa B).



Obrázek č. 4: Patofyziologie pokročilého chronického srdečního selhání. Kardiomyocyty vystavené dlouhodobě mechanickému stresu a produkci neurohumorální aktivace realizují fetální genový program přestavby myokardu. Remodelace není jediným důsledkem. Kardiomyocyty samy exprimují adhezivní molekuly a produkují cytokiny. V pokročilých fázích CHS produkují cytokiny i endoteliální buňky ostatních orgánů a pneumocyty. Nejdůležitějším mediátorem katabolických procesů je **TNF- α** . Důležitou roli hrají i interleukiny (IL-6, IL-1, IL-10) a růstové faktory. Produkované interleukiny samy sekundárně aktivují buňky imunitního systému a znásobují tak produkci sebe sama.

Jednou z hlavních příčin **kardiorenálního syndromu** je dlouhodobé zvýšení centrálního žilního tlaku (\uparrow CVP), což vede k poklesu perfuzního gradientu na úrovni glomerulárních kapilár. \uparrow CVP a zvýšení intraabdominálního tlaku jsou také jednou z hlavních příčin progresivního poškození jater. Mediátory fibrotizace (ANG II, aldosteron, cytokiny) prohlubují přestavbu jaterního parenchymu. TNF α přímo ovlivňuje proteosyntézu v játrech a aktivaci ubikvitinového systému podporuje likvidaci již vzniklých proteinů. Vazokonstrikce v portálním řečišti způsobená aktivací α -receptorů vede k poklesu průtoku řečištěm s následným snížením odtoku lymfy. Trvale hepatocyty secernovaný produkt metabolismu adenosin stimuluje aferentní hepatické nervy a reflexně ovlivňuje renální hemodynamiku ve smyslu vazokonstrikce a retence natria. Tento mechanismus je nazýván **hepatorenálním reflexem** a v patofyziologii pokročilého CHS má své místo. Otok fibroticky změněné stěny přispívá k malabsorpci. Stěna se stává více propustnou pro bakteriální endotoxiny, které dále stimulují imunitní systém. Dalším důsledkem katabolického stavu je **anémie**. TNF- α tlumí aktivitu kostní dřeně, IL-6 negativně ovlivňuje vstřebávání železa a snižuje jeho dostupnost pro erytropoezu depozicí v retikuloendotelovém systému. Anemii prohlubuje progredující ledvinová nedostatečnost, snížená citlivost k erytropoetinu a dále deficit vitamínu B12 a kyseliny listové při malabsorpci. V terminálních stavech je anémie velmi obtížně ovlivnitelná.

Syndrom pokročilého CHSS je onemocněním celého organismu a postižena je i plicní tkáň. Kromě plicní hypertenze kombinované etiologie nalézáme často **restrikční ventilační poruchu**, poruchu struktury a funkce dýchacího svalstva. Zvýšená senzitivita k podnětům z ergoreceptorů, periferních a centrálních chemoreceptorů vede k **abnormální hyperventilaci při zátěži**. Redukce tělesné aktivity pro symptomatologii spojenou se zátěží vede k progresi maladaptace svalové tkáně, klesá její metabolická aktivita s významným podílem glykolýzy na krytí metabolických potřeb. S pokročilým stadiem je spojena **svalová atrofie**.

Katabolická fáze pokročilého CHSS je spojena také s anémií chronických stavů, která je obtížně ovlivnitelná a také s poruchami kostního metabolismu. Klinickým důsledkem těchto procesů je **kardiální kachexie**. Stadium farmakoterapií neovlivnitelné, rychle progredující, spojené s velmi nepříznivou prognózou. Jedinou možností, jak zabránit úmrtí nemocného je trvalé zvýšení minutového srdečního výdeje srdeční transplantací při dostupnosti vhodného štěpu nebo implantací mechanické srdeční podpory (Hegarova M. et al., 2015).

1.2.2 Posouzení prognózy, indikace k transplantaci srdce

Prognóza nemocných s neléčeným CHSS je velmi nepříznivá. Data z mortalitní studie s enalapilem (Consensus) v druhé polovině osmdesátých let minulého století jasně ukázala závažnost syndromu (Konstam M. A. et al, 1992). Více než 40% neléčených nemocných s pokročilým CHSS zemřelo do půl roku. V horizontu deseti let zemřeli téměř všichni v neléčené i intervenované skupině. Moderní kombinovanou medikamentózní léčbou a nefarmakologickými léčebnými postupy se podařilo v posledních dvou desetiletích výrazným způsobem prodloužit a zkvalitnit život těchto nemocných. Ve většině případů jsme však dosáhli pouze oddálení vzniku pokročilého CHSS. Nemocní v této fázi onemocnění mají i v současné době velmi špatnou prognózu a příznivé ovlivnění jejich osudu je nadále velkou medicínskou výzvou (Hegarová M., 2015).

Ortotopická transplantace srdce (OTS) je v naší zemi prováděna již více než 30 let a stala se zavedenou dostupnou metodou pro vybrané nemocné s pokročilým CHSS. Omezený počet vhodných dárců značným způsobem program limituje. V důsledku toho jsou všechna transplantační centra nucena pečlivě vybírat nemocné, kteří budou mít z metody největší prospěch. Jednu stranu mince představuje správný odhad nepříznivé prognózy a druhou zvážení všech ostatních

okolností, které mohou významně ovlivnit přežívání a kvalitu života po OTS. V posledních letech se uplatňují v transplantačním programu ***dlouhodobé mechanické srdeční podpory oběhu***. Hlavní indikací k jejich implantaci je přemostění doby do OTS u pacientů s velmi špatnou prognózou, u kterých nenalezneme včas vhodného dárce. Další indikací je těžká „fixovaná“ plicní hypertenze s hodnotami transpulmonálního gradientu a plicní arteriální rezistence, které představují kontraindikaci OTS pro riziko selhání PK štěpu.

Faktory, které svědčí pro nepříznivou prognózu

Funkční postižení	NYHA IIIB-IV
	pVO ₂ < 12 ml/kg/min, VE/VCO ₂ slope > 35
Klinické faktory	opakované dekompenzace srdečního selhání
	klidová tachykardie
	hypotenze
	cvalový rytmus
	intolerance inhibitorů RAAS systému a betablokátorů
	váhový úbytek
Echokardiografické nálezy	nízká ejekční frakce levé komory
	výrazná dilatace levé komory
	významné regurgitace na mitrální a trikuspidální chlopni
	známky vysokého plicního tlaku levé i pravé komory
	porucha funkce pravé komory
	známky plicní hypertenze
Hemodynamika	zvýšené plicní tlaky komor
	zvýšený tlak v plicnici
	nízký srdeční výdej
	vysoká systémová rezistence
Laboratorní nálezy	hyponatremie
	hypokalemie
	zvýšená hladina kyseliny močové, bilirubinu a kreatininu
	vysoká hladina BNP
Elektrofyzilogické faktory	přítomnost komorových extrasystol
	komorové tachykardie
	fibrilace síní
	šíře QRS ≥ 120msec

Tabulka 1: Prognostické faktory chronického srdečního selhání.

Při posuzování pokročilosti CHSS jsou podstatná anamnestická data o délce trvání nemoci, epizodách dekompenzací, jejich příčin i dosud provedených léčebných výkonů (Ketchum E. S., Levy W.C., 2011). Nepříznivou prognózu

naznačují opakované epizody dekompenzací bez zjevné odstranitelné příčiny. K zpřesnění posouzení individuální prognózy používáme známé ukazatele (*tab. č. 1*).

S prognózou nemocných také koreluje míra neurohumorální aktivace. Rutinně zavedeným testem, který tuto míru odráží je stanovení hladiny BNP. Hladiny BNP (stejně jako NT-proBNP) korelují s pokročilostí CHSS vyjádřenou třídou NYHA, ejekční frakcí LK i stupněm plicní hypertenze. Vzhledem k vysoké interindividuální variabilitě BNP je pro praxi nejpřínosnější opakované stanovení. Výrazný vzestup ve srovnání s hodnotou v klinicky stabilizovaném stavu vždy signalizuje progresi CHSS. Často spolu se zvýšenou hladinou BNP pozorujeme i jasné klinické známky zhoršení, progresi symptomů, známky nízkého minutového výdeje nebo městnání.

Jsou ale situace, kdy je vysoká hladina BNP jediným varovným signálem. Příkladem může být subklinická hypervolemie nebo vzestup tlaku v plicnici bez klinického zhoršení. Naopak, pokles hladiny BNP po léčbě je spojen s dobrou prognózou. Návrat hladiny BNP do stavu před dekompenzací by měl být cílem léčby a vodítkem pro rozhodnutí o propuštění pacienta domů.

V odhadu prognózy je zásadní zhodnocení vývoje všech sledovaných prognostických markerů v čase. Nikdy není určující jen jeden parametr. Posouzení prognózy a indikace k OTS u ambulantních pacientů je nadále velmi obtížným úkolem. Dosud bylo popsáno mnoho desítek prognostických ukazatelů. S cílem co nejvíce zpřesnit odhad prognózy byla vytvořena řada modelů. Prvním kombinujícím modelem byl HFSS (Heart Failure Survival Score), zahrnující 7 komponent, pomocí nichž lze odlišit nemocné s malým, středním a vysokým rizikem úmrtí. Pro posouzení prognózy nemocných s pokročilým CHSS je model ve vztahu k indikaci OTS nebo načasování implantace mechanické srdeční podpory nevhodný. Seattle Heart Failure Model (SHFM, SeattleHeartFailureModel.org) (*Lewy W.C, et al., 2006*) kombinuje 20 dostupných prognostických ukazatelů (věk, pohlaví, váha, NYHA třída, systémový tlak, ejekční frakce LK, potřeba diuretik, ostatní medikace, implantované přístroje a základní laboratorní nálezy). Oprávněnost používání tohoto modelu v indikaci k OTS nebyla dosud dostatečně doložena, podle nálezů některých autorů jej dokonce nelze při zvažování indikace doporučit. Vyplnění parametrů SHFM však může upozornit lékaře na zatím nevyčerpané léčebné postupy, odhadnout efekt zvažované další terapie a být užitečným pomocným vodítkem v úvaze, zda pacienta již odeslat do kardiocentra s transplantačním programem.

V transplantačním centru vyžaduje konečné rozhodnutí o zařazení ambulantních pacientů na čekací listinu komplexní individuální zhodnocení jednotlivých případů, které vyžaduje zkušenost indikačního týmu lékařů.

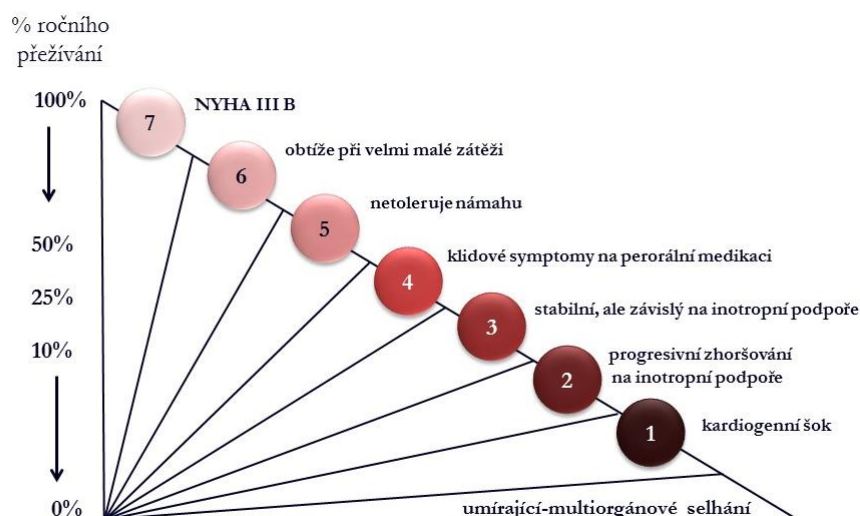
Někteří pacienti referovaní k OTS mají již jasně vyjádřené známky pokročilého CHSS. Jde o nemocné ve funkční třídě NYHA IV, jejichž stav vyžaduje hospitalizaci. Nejdůležitější je v takové situaci odlišení nezvratitelného progresivního selhávání od ještě zvládnutelné dekompenzace. Prvním úkolem je zhodnocení dosavadní léčby a pátrání po možných odstranitelných příčinách zhoršení stavu. Velkým přínosem je v tomto případě opět monitorace hladin BNP v průběhu intenzivní léčby. Pokles hladiny BNP je spojen s poklesem plicních tlaků a klinickým zlepšením, které poskytuje drahocenný čas pro posouzení dlouhodobé prognózy a přidružených onemocnění. Podobně postupujeme i v případech nově vzniklého srdečního selhání, které může mít i přes fulminantní nástup relativně dobrou prognózu. Typicky se jedná o pacienty s myokarditidou, kardiomyopatií v souvislosti s těhotenstvím a porodem, kardiomyopatií indukovanou arytmií nebo arteriální hypertenzí. Dostupnost implantabilních levostranných mechanických podpor oběhu (LVAD-left ventricular assist device) v posledních letech do jisté míry ulehčuje někdy velmi těžké rozhodování, zejména v případě mladých nemocných.

Největší problém představuje pacient, který přichází poprvé již ve stadiu terminálního selhání CHSS s kardiální kachexií, poruchou syntetických jaterních funkcí, anemií a hyponatremií. O nepříznivé prognóze pak jistě není sporu, nemocný se však dostává za hranici únosnosti OTS. Jediným řešením je dlouhodobé zvýšení minutového srdečního výdeje implantací LVAD. Tito nemocní mají vždy velmi komplikovaný pooperační průběh, mají problémy s ventilací, vysoké riziko infekcí a krvácivých komplikací. K úpravě ukazatelů výživy dochází obvykle až po několika měsících.

1.2.3 Společná srozumitelná řeč pomocí profilů INTERMACS a shrnutí indikací

Velmi užitečným počinem bylo vypracování škály sedmi stupňů závažnosti pokročilého CHSS v kontextu indikace k implantaci LVAD (*Kirklin J. K. et al., 2008*). Potřeba vzájemného porozumění mezi implantačními centry a sjednocení popisu stadia CHSS při zadávání dat do registru *INTERMACS* (Interagency

Registry of Mechanically Assisted Circulatory Support) dospěla k definici a popisu úrovní pokročilého chronického srdečního selhání podle prognózy (**obr. č. 5**).



Obrázek č. 5: Stadia pokročilého srdečního selhání podle INTERMACS (Interagency Registry of Mechanically Assisted Circulatory Support).

Profil 1 = dramatický průběh terminálního CHSS s život ohrožující hypoperfuzí orgánů při stoupající inotropní podpoře. Stadium odpovídá kardiogennímu šoku a bez rychlé intervence je spojeno s infaustní prognózou.

Profil 2 = nemocný horší se na inotropní podpoře, kde není pochyb o indikaci k implantaci VAD jako mostu k OTS.

Profil 3 = pacient oběhově stabilní, ale závislý na středních dávkách inotropních látek. Nemocný nemá dobrou prognózu a je typicky urgentním kandidátem OTS. Pro další osud nemocného je nejdůležitější pečlivá monitorace ledvinových a jaterních funkcí a stavu nutrice. Stadium představuje druhou nejčastější indikaci k implantaci VAD.

Profil 4 = symptomy v klidu, pacient je na perorální medikaci. Jde o skupinu ve funkční třídě NYHA IV. Nemocní obvykle pobývají doma mezi relativně častými hospitalizacemi pro dekompenzaci a i přes maximální možnou medikaci mají velmi nízkou kvalitu života, jsou zařazeni na čekací listinu k OTS. V případě dalších nepříznivých okolností jako jsou známky kardiální kachexie nebo přítomnost těžké plicní hypertenze mají šanci z implantace VAD jako mostu k OTS.

Profil 5 a 6 = nemocní nemají obtíže v klidu a nejsou hospitalizováni. Profil 5 odpovídá funkční třídě NYHA IV bez klidových obtíží, netolerující žádnou zátěž. Situaci vystihuje popis „pacient neopouštějící domov“ nebo „uvázaný doma“.

Profil 6 je podobný, ale pacient toleruje minimální námahu. Tito nemocní splňují kriteria ambulantních kandidátů OTS a jejich prognóza mimo jiné souvisí s tolerancí medikace inhibitory RAAS a betablokátory. Nejlepší prognózu mají nemocní hodnocení stupněm 7. Tito pacienti jsou stabilní, ve funkční třídě NYHA IIIB. K posouzení indikace OTS u těchto nemocných postupujeme výše popsaným způsobem s použitím dalších prognostických známek.

Charakteristika jednotlivých profilů může být modifikována dalšími okolnostmi jako je stav výživy, frekvence dekompenzací a přítomnost komorových arytmií (Stevenson L. W. et al, 2009).

1.3 Natriuretické peptidy v patofyziologii chronického srdečního selhání

1.3.1 Rodina natriuretických peptidů

Argentinsko-kanadský vědec Adolfo J. de Bold publikoval v roce 1981 výsledky pozorování, při kterém vedlo podávání extraktu ze srdečních síní potkanům k zvýšení natriurézy (*de Bold A. J. et al., 1981*). Tato experimentální práce byla podnětem pro rozvoj výzkumu endokrinní aktivity srdce. Následovaly objevy strukturálně podobných geneticky rozdílných peptidů, které se účastní kardiorenální homeostázy. **Atriální natriuretický peptid** (ANP) byl objeven v roce 1983, o 5 let později byl objeven v mozku prasete **brain natriuretický peptid** (BNP) (*Sudoh T. et al., 1988*), záhy byl detekován v lidském myokardu (*Saito Y. et al., 1989*) a konečně v roce 1990 byl identifikován **C-natriuretický peptid** (CNP). V roce 1992 byl z hada *Dendroaspis augusticeps* izolován peptid – DNP (**dendroaspis natriuretic peptide**). Imunohistochemicky byla potvrzena DNP-like aktivita v lidském myokardu a imunoreaktivita (DNP-LI) v plazmě. Důkaz v podobě chromatograficky identifikovaného peptidu nebo průkazu DNA v lidském organismu nebyl dosud podán.

1.3.2 C-natriuretický peptid

CNP je velmi konzervativní molekula, byly nalezeny zcela identické peptidy o 53 a 22 aminokyselinách u lidí, prasat a potkanů. Pro-CNP sestává ze 103 aminokyselin a je štěpen furinem na aktivní peptid o 53 aminokyselinách. CNP-53 je dominantní molekulou v mozku (*Totsune K. et al., 1994*) a v endoteliálních buňkách (*Stingo A. J. et al., 1992*). Endotelie produkuje CNP ve zvýšené míře jsou-li vystavené účinkům cytokinů (*Suga S. et al., 1992*). V některých tkáních je CNP-53 dále štěpen dosud neznámým enzymem za vzniku CNP o 22 aminokyselinách, který má stejné biologické účinky (*Yeung, V. T. et al., 1996*). CNP-22 byl detekován v plazmě a mozkomíšním moku (*Togashi K. et al., 1992*). Zdrojem CNP mohou být také chondrocyty (*Hagimura H. et al., 1994*), lidské makrofágy (*Ishizaka Y. et al., 1992*), srdeční fibroblasty a kardiomyocyty (*Horio T. et al., 2003*). CNP se preferenčně váže k B-typu receptoru pro NP (NPR-B) (*Barr C., 1996*), prostřednictvím kterého realizuje také své účinky v kardiovaskulárním systému. Působení CNP v regulaci cévního tonu a inhibici remodelace cévní stěny a

myokardu (*Furuya M. et al., 1991*) je hlavně parakrinní (*Clavel A. L. et al., 1993*), plazmatické hladiny jsou nízké, nicméně v podmínkách srdečního selhání se zvyšují (*Nishikimi T. et al., 2006*). CNP tlumí bazální i endotelinem -1 (ET-1) indukovanou proteosyntézu, expresi genů spřažených s hypertrofickým fenotypem, DNA vazebnou aktivitu transkripčních faktorů (GATA-4, MEF-2), aktivitu Ca^{2+} /calmodulin-dependentní kinázy II a fosforylaci ERK. Působí také proti ET-1 indukovanému zvýšení intracelulární koncentrace kalciových iontů a inhibuje produkci ET-1 nemyocytárními buňkami (*Tokudome T. et al., 2004*). ET-1 tlumí signální cestu CNP aktivací PKC a kalcium dependentním mechanismem.

1.3.3 ANP a BNP v kontextu teorie fetálního genového programu u srdečního selhání

ANP i BNP jsou C-peptidy, které vznikají z prekurzorů. Geny pro prekurzory obou peptidů se nacházejí na 1. chromozomu. Oba peptidy hrají roli ve fetálním vývoji myokardu a regulaci tlaku a vodní a elektrolytové homeostázy. ANP i BNP jsou produkovány také buňkami placentárního cytotrofoblastu a moduluji placentární vazomotoriku ve smyslu dilatace.

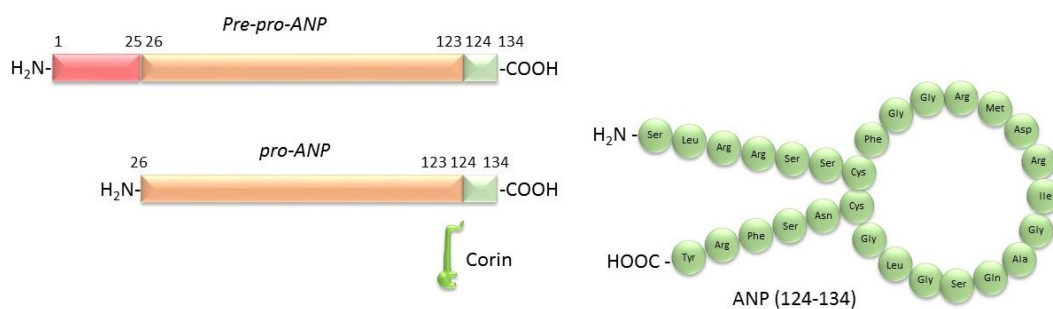
V experimentech se zvířecími modely byla opakovaně potvrzena vysoká koncentrace mRNA kódující NP ve fetálním myokardu s klesajícím trendem v závislosti na stupni gestačního vývoje (*Hersey R. et al., 1987*). Stejně tak byla nalezena vysoká exprese ANP a BNP (nikoliv CNP), v lidském fetálním myokardu (*Takahashi T. et al., 1992*). Všechny nálezy souhlasně vypovídají o významně vyšší expresi ANP a BNP fetálním myokardem ve srovnání s dospělým (*Gardner D. et al., 1989*). Navíc byla potvrzena časová souhra vrcholů koncentrací NP s vývojovými fázemi srdce u myších modelů a zvýšená exprese NP v reakci na objemové přetížení a vazokonstrikční působky jako je ANG II, endotelin, vazopresin a noradrenalin (*Cameron V. A. et al., 1996*). Význam NP pro normální vývoj fetálního srdce podpořily i experimenty s myšími modely, které neexprimují A-typ receptoru pro NP (NPR-A). Novorození jedinci měli hypertrofický myokard s vysokou mírou fibrózy (*Ellmers L. et al., 2002*) a významně často vyvinuli mezokardii a dextrokardii. ANP i BNP hrají evidentně roli v regulaci růstu kardiomyocytů v průběhu ontogeneze (*Cameron V.A., Ellmers L.J., 2003*).

Zvýšená produkce obou NP v reakci na zvýšený myokardiální stres a produkty neurohumorální aktivace tak zapadá do teorie aktivace exprese fetálních

genů v průběhu remodelace myokardu. Expresi genů pro BNP i ANP v postnatálním myokardu ovlivňuje kalcineurinem regulovaný nukleární faktor aktivovaných T buněk (NFAT) (*Dirkx E. et al., 2013*), v embryogenezi mimo jiné důležitý pro vývoj srdečních chlopní (*Lin C.Y. et al, 2012*).

1.3.4 Translace ANP a BNP, posttranslační úpravy, sekrece a molekulární formy

Translací **ANP mRNA** vzniká pre-pro-ANP o 151 aminokyselinách, následně je odštěpen signální peptid sestávající z 25 aminokyselin za vzniku pro-ANP (γ -ANP) o 126 aminokyselinách (*Nakao K. et al., 1992*) (**obr. č. 6**). Pro-ANP je tkáňovou formou ANP v buňkách myokardu síní a komor, je uložen v granulích myocytů. Jeho štěpení za vzniku aktivní formy ANP (α ANP) o 28 aminokyselinách a biologicky neaktivního NT-pro-ANP sestávající z 98 aminokyselin transmembránovou proteázou corinem (*Yan V. et al., 2000*) probíhá v průběhu sekrece do oběhu. Alternativním zpracováním pro-ANP dosud neidentifikovanou proteázou vzniká v ledvinách peptid o 32 aminokyselinách-homolog ANP, nazývaný urodilatin (*Forssmann W. G. et al., 1998*). Selhávajícím myokardem je produkován také dimer ANP – β ANP (*Sugawara A. et al, 1998*), u pokročilého CHSS byly jeho hladiny detekovány v plazmě (*Akimoto K. et al., 1988*).

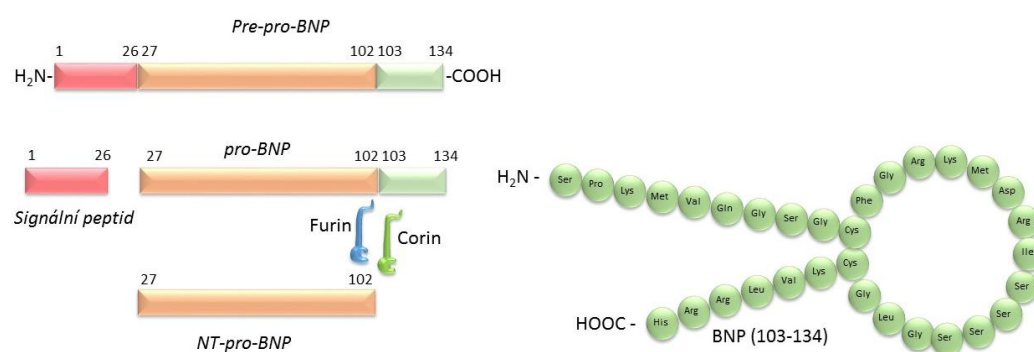


Obrázek č. 6: Vznik aktivní molekuly ANP.

Skládování prohormonu ANP v sekrečních granulích umožňuje rychlé vyplavení aktivní molekuly v reakci na akutní stimul (*Mangat H., de Bold A.J., 1993*), na rozdíl od BNP, kde sekreci hormonu předchází nejprve zvýšení koncentrace BNP mRNA (*Mäntymaa P. et al., 1993*).

Výsledkem **translace BNP-mRNA** je pre-pro BNP o 134 aminokyselinách, z něhož je odštěpen signální peptid složený z 26 aminokyselin za vzniku pro-BNP o 108 aminokyselinách (**obr. č. 7**). Na rozdíl od pro-ANP, který je skladován

intracelulárně ve vezikulách, probíhá syntéza pro-BNP zejména v komorovém myokardu hlavně de-novo. K odštěpení biologicky aktivního BNP (103-134) dochází ponejvíce účinkem enzymu patřícího do rodiny subtilisin-like peptidáz – furinu (Nakayama K. et al., 1997). Proces probíhá v síti cisteren na trans-straně Golgiho aprátu, kde byl furin detekován. V relativně malém množství se tato proteáza nachází také v intracelulárních vezikulách kardiomyocytů (Bossbhart H. et al., 1994), které proto obsahují jak proBNP tak také aktivní BNP. Délka biologicky aktivní formy BNP je u živočišných druhů různá, lidská molekula sestává z 32 aminokyselin. Spolu se sekrecí BNP 1-32 do oběhu probíhá konstitutivně i sekrece zbývající části původní molekuly – N-terminální pro BNP (NT-proBNP) sestávající ze 78 aminokyselin.



Obrázek č. 7: Vznik aktivní molekuly BNP.

Obrázek 7 ukazuje základní proces štěpení pre-proBNP, kde je číselné označení aminokyselin započato od NH₂ konce primárního mateřského proteinu pre-proBNP. Aktivní BNP (103-134) je však častěji v literatuře označován jako BNP 1-32, každý protein procesu maturace pak začíná 1. aminokyselinou. Tímto principem se pak řídí klasifikace NT-pro BNP 1-76 a proBNP 1-108. Zkrácené formy aktivního BNP jsou pak označovány jinak, podle počtu odštěpených aminokyselin z NH₂ nebo karboxylového konce proteinu, jak bude posáno dále.

U pacientů s CHSS představuje BNP 1-32 v plazmě minoritní formu biologicky aktivního peptidu (Niederkoefler E.E. et al., 2008; Miller W.L. et al., 2011). Krátce po sekreci je totiž v plazmě z BNP 1-32 odštěpen N-terminální serin-prolin dipeptid dipeptidylpeptidázou IV (DPP IV), za vzniku BNP 3-32. DPP IV také štěpí v plazmě proBNP za vzniku zkrácené formy proBNP (3-108) (Volpe M. et al., 2016), jehož hladiny stoupají u pacientů s asymptomatickou dysfunkcí levé srdeční komory a u pacientů s CHSS (Yandle T.G., Richards A.M., 2015). Z NT-proBNP vzniká účinkem DPP IV zkrácená forma 3-76.

Jinou cirkulující zkrácenou formou je BNP 5-32, vznikající štěpením neprilysinem. Podrobněji bude tento enzym zmíněn v kapitole 1.3.7.

Další zkrácené formy BNP se zachovalou cyklickou částí molekuly vznikají v plazmě štěpením insulin degradujícím enzymem (IDE). Tato proteáza, která reguluje hladinu insulinu a štěpí v mozku amyloid beta, má afinitu ke všem třem NP-ANP, BNP i CNP. BNP štěpí na C-terminálu mezi Leu²⁹ - Arg³⁰ a Arg³⁰ - Arg³¹, v N-terminálu mezi Lys³ a Met⁴. IDE může také BNP degradovat za vzniku metabolitů s rozpojenou kruhovou strukturou (*Ralat L.A. et al., 2011*).

Enzymy, které štěpí BNP 1-32 na zkrácené formy- DPP IV, IDE a neprilysin jsou exprimovány v srdci, DPP IV hlavně v endoteliích kapilár srdečního svalu (*Matheussen V. et al., 2011*).

Zkrácené formy BNP se zachovalou kruhovou strukturou (3-32, 4-32, 5-32, 5-31, 5-27, 5-26) vykazují menší biologický efekt a méně zvyšují cGMP v cílových tkáních nejspíše z důvodu jejich rychlejší degradace ve srovnání s BNP 1-32 (*Yandle T.G., Richards A.M., 2015*). Laboratorní metodika užívaná k detekci hladin BNP Abbott Architect vykazuje vysokou afinitu k BNP 1-32, identifikuje také hlavní zkrácené formy BNP 3-32, BNP 4-32 a BNP 5-32, nikoliv však cyklické formy BNP se zkráceným karboxylovým terminálem – BNP 5-26, BNP 5-27 a BNP 5-31.

Studie posledních let prokázaly, že v plazmě nemocných s CHSS lze detekovat ve značném množství kromě BNP a NT-proBNP také neštěpenou molekulu pro-BNP (*Nishikimi T. et al. 2010; Waldo S.W. et al., 2008*). Molekula pro-BNP totiž podléhá při prostupu Golgiho aparátem glykosylaci, přičemž intracelulárně je dominantní neglykosylovaná forma a v plazmě je dominantní forma glykosylovaná (*Tonne J.M. et al., 2011*). Lidská molekula pro BNP má sedm míst, která mohou být glykosylována. Pokud dojde ke glykosylaci v místě blízkém vazbě štěpené furinem mezi 76. a 77. aminokyselinou, konkrétně na Thr⁷¹, nemůže být NT-proBNP odštěpen (*Semenov A.G. et al., 2010*) a glykosylovaný proBNP je dosud ne přesně známým mechanismem transportován do plazmy. V plazmě lze však detekovat také asi 30% molekul proBNP, které nejsou glykosylovány v pozici Thr⁷¹. Molekuly proBNP cirkulují v plazmě v koncentracích podobných nebo vyšších než BNP. Přestože představují velkou poměrnou část cirkulujících molekulárních forem BNP, mají jen velmi malou biologickou aktivitu (*Yandle A.M. et al., 2015*). Díky výsledkům experimentů na krysích modelech s aplikací pro BNP se spekuluje, že cirkulující proBNP může být zdrojem BNP v plazmě (*Semenov A.G.*

et al., 2010). Rekombinantní neglykosylované molekuly proBNP jsou v míře závislé na koncentraci corinu in vitro v lidské plazmě štěpeny za vzniku BNP (*Ichiki T. et al.* 2011). Fyziologický význam maturace molekuly extracelulárně v lidském organismu však dosud nebyl prokázán. Existuje však paralela, kdy je prekursor prouroguanilin transportován ze střeva do ledvin, kde je teprve štěpen na aktivní formu NP-uroguanylin (*Dickey D.M., Potter L.R., 2011; Qian X. et al., 2008*).

1.3.5 Spouštěcí faktory produkce ANP a BNP

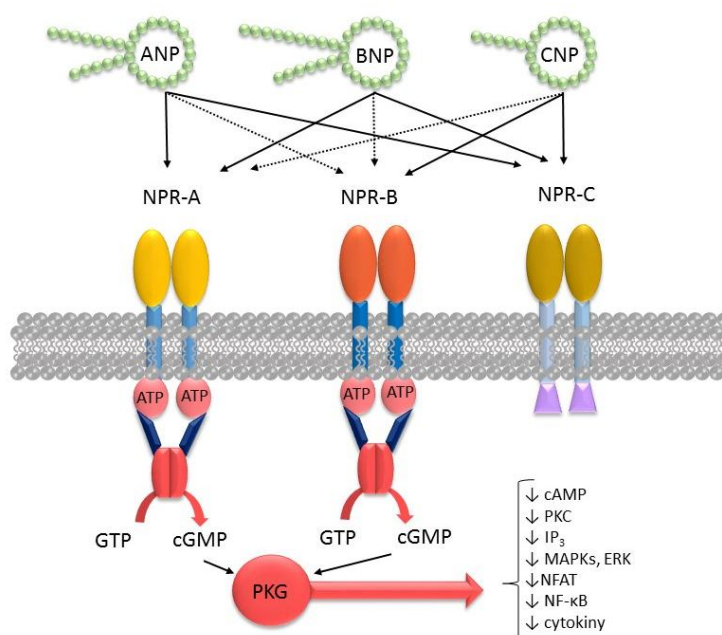
ANP je produkován hlavně v srdečních síních v reakci na hypervolémii. Hlavním stimulem produkce není vzestup tlaku v síních, ale zvýšené napětí jejich stěn (*Edwards B.S. et al., 1988*). Syntézu ANP spouštějí napětím stěny uvolněné parakrinní mediátory jako je ANG II (*Soualmia H. et al., 1997*), ET-1 (*Stasch J. P. et al., 1989*), vazopresin (*Lachance D. et al., 1986*), cytokiny (*de-Bold A. J. et al., 1996*), tachykardie, hypoxie a ischemie myokardu (*Bruneau B. G. et al., 1997; Ogawa T. et al., 1996*). Zdravá dospělá tkáň srdečních komor na rozdíl od fetální produkuje pouze malé množství ANP, důležitým zdrojem ANP se však stává hypertrofický a selhávající komorový myokard (*Ruskoaho H. et al., 1989; Thibault G. et al., 1989; Yasue H. et al., 1989*).

BNP může být produkován v srdečních síních i komorách (*Nakao K. et al., 1992*), za fyziologických podmínek je jeho produkce velmi nízká. Dominantním zdrojem jsou kardiomyocyty levé srdeční komory (*Yasue H. et al., 1994*), vysokou produkci vykazují v podmínkách srdečního selhání (*Nakagawa O et al., 1995; Ruskoaho H. et al., 2003*). Jde o reakci na zvýšené napětí stěny komory (*Kinnunen P. et al., 1993*) v důsledku tlakového nebo objemového přetížení nebo ischemického poškození myokardu. Síňový podíl v produkci BNP je významný při převažující hypertrofii LK (*Murakami Y et al., 2002*) a při fibrilaci síní (*Inoue S. et al., 2000*).

1.3.6 Receptory natriuretických peptidů

Biologický efekt natriuretických peptidů je umožněn vazbou na specifické membránové receptory. Dosud byly identifikovány tři typy receptorů pro natriuretické peptidy- NPRA-A, NPR-B a NPR-C (*Pandey K.N., 2005*). NPR-A a NPR-B jsou receptory s guanylátcyklázovou aktivitou (*Kuhn M., 2003*). Důsledkem vazby NP je aktivace jejich intracelulární guanylátcyklázové domény, což vede ke

zvýšení koncentrace druhého posla cyklického guanosin monofosfátu (cGMP) v cílových buňkách a v plazmě a moči (Gardner D.G. *et al.*, 2007). Biologické účinky jsou realizovány prostřednictvím cGMP aktivovaných serin a threonin kináz – proteinkináz G (PKGs). Vysokou expresi NPR-A vykazují ledvinové tepny, mesangium, tubulární buňky a buňky sběracích kanálků, buňky zona glomerulosa kůry nadledvin, terminální ileum, tuková tkáň, stěna aorty, plicní tkáň a CNS (Chang MS, 1989; Gardner D.G. *et al.*, 2007; Beltonski J., Wojcicka G., 2002). NPR-B exprimují hlavně fibroblasty (Abbey S.E., Potter L.R. 2002). Nejvyšší afinitu k NPR-A má ANP, nižší BNP a nejnižší CNP, který se váže s vysokou afinitou k NPR-B. Afinita k NPR-B klesá v pořadí $CNP > BNP > ANP$.



Obrázek č. 8: Schématické znázornění interakce NP-ANP, BNP a CNP s receptory. Receptor pro NP typu A, NPR-A a typu B, NPR-B mají adenylátcyklázovou aktivitu. Signální cestou je aktivace proteinkinázy G (PKG) cyklickým guanosin monofosfátem (cGMP). Výsledný účinek je pak mnohočetný. PKG inhibuje signální cesty cyklického adenosin monofosfátu (cAMP), proteinkinázy C (PKC), snižuje hladinu inositol trifosfátu (IP₃), inhibuje aktivitu promitogenních kináz (MAPKs, ERK), inhibuje signální cestu kalcineurin – NFAT, ovlivňuje cesty vrozené imunity snížením NF-κB (nukleární faktor kappa B), ovlivňuje produkci cytokinů. Největší afinitu k NPR-A má ANP, nižší BNP. CNP se dominantně váže na NPR-B. Všechny tři NP mají afinitu k NPR-C, který zprostředkovává jejich degradaci.

1.3.7 Degradace natriuretických peptidů

Degradaci ANP a BNP zajišťují hlavně clearancový receptor NP typu C a neutrální endopeptidáza neprilysin. Odstraňování ANP z oběhu pomocí receptoru NPR-C poprvé v roce 1987 popsal Thomas Maack (Maack T. *et al.*, 1987). NPR-C,

clearancový receptor NP není svázán s žádným známým druhým poslem a nemá žádnou vnitřní enzymatickou aktivitu (*Maack T., 1992*). NPR-C mediuje internalizaci a následnou lysozomální degradaci NP. Po degradaci ligandu je receptor recyklován a umístěn zpět do buněčné membrány. NPR-C mRNA byla nalezena v myokardu, mezenteriu, placentě, plicích, žilní stěně, svalovině stěny aorty a buňkách aortálního endotelu, kůře nadledvin, mozkové kůře a v mozečku. (*Porter J.G. et al., 1990; Wilcox J.N. et al., 1991*).

NP jsou také degradovány proteázami. Nejvýznamnější z nich je zinek dependentní proteáza neprilysin (NEP), přítomná jednak v cirkulaci a jednak v buněčných membránách, zejména v plicích a ledvinách (*Roques B.P., 1993*). Degraduje řadu vazoaktivních peptidů včetně NP, bradykininů, adrenomedullinu a ET-1, β řetězce inzulinu, enkefalinů a β listů amyloidu. NEP štěpí ANP na 7 místech, počátečním krokem je rozštěpení kruhu mezi Cys⁷ a Phe⁸, což vede k inaktivaci peptidu (*Vanneste Z. et al., 1988*). Ve stejné pozici iniciuje neprilysin i štěpení cyklické části molekuly CNP. ANP i CNP jsou napříč živočišnými druhy mnohem konzervativnějšími molekulami než BNP. Místa štěpení BNP NEP jsou tak druhově specifická a molekula lidského BNP sama o sobě je výrazně (až desetkrát) slabším substrátem pro NEP než ANP a CNP. NEP neštěpí molekulu BNP v konzervativní části uzavírající kruhovou strukturu, ale ve vazbě Arg¹⁷ – Ile¹⁸ kruhové struktury (*Kenny A.J. et al., 1993*) a primárně mezi Met⁴ – Val⁵ amino konce necyklické části řetězce (*Yandle A.M. et al., 2015*). Výsledkem štěpení NEP je kruhová zkrácená forma BNP 5-32 a dva metabolity s rozštěpeným kruhem. Druhová specifita BNP a jeho degradace tak nedovoluje implementaci výsledků studií se zvířecími modely do humánní medicíny. Například u potkaních modelů je štěpení BNP neprilysinem hlavním degradačním mechanismem, v lidských ledvinách se však NEP na štěpení BNP významně nepodílí (*Dickey D.M., Potter L.R., 2010*). NP jsou štěpeny také další zinek dependentní proteázou s cytoplazmatickou i membránově vázanou aktivitou – insulin-degradujícím enzymem (IDE) (*Muller D. et al., 1991*), která je zodpovědná za vznik zkrácených forem aktivní molekuly BNP.

ANP má k NPR-C vyšší afinitu než BNP, je metabolizován v plicích, méně v játrech a dále v menší míře v ledvinách (*Hollister A.S. et al., 1989*). Blokáda clearancového receptoru NPR-C vede v experimentu k lehce výraznějšímu zvýšení ANP než podání inhibitoru NEP. Nejvyšších hladin ANP lze dosáhnout

kombinací obou postupů (*Volpe M. et al., 2016*). V situaci CHSS mohou být koncentrace NP tak vysoké, že NPR-C je saturován, inhibice NEP tak zůstává účinnou metodou jak snížit jejich degradaci. Podíl NPR-C a NEP v degradaci BNP není dosud jasný, navíc se liší v různých tkáních.

Z plazmy je ANP odstraňován rychle (*Maack T. et al., 1987*). Biologický poločas ANP se pohybuje u zdravých lidí kolem 2 minut. NT-proBNP a BNP jsou v plazmě stabilnější než ANP (*Davidson N.C. et al., 1995*), mají delší biologický poločas, díky čemuž jsou mnohem vhodnější pro monitoraci v klinické praxi (*Murdoch D.R. et al., 1997*). Delší biologický poločas BNP (22min) je vysvětlován nižší afinitou ke clearancovému receptoru i neprilysinu (*Lang C.C. et al., 1992*).

Mechanismus zániku N – terminálních fragmentů není přesně znám, předpokládá se degradace v ledvinách (*Vanderheyden M. et al., 2004*).

1.3.8 Biologické účinky ANP a BNP

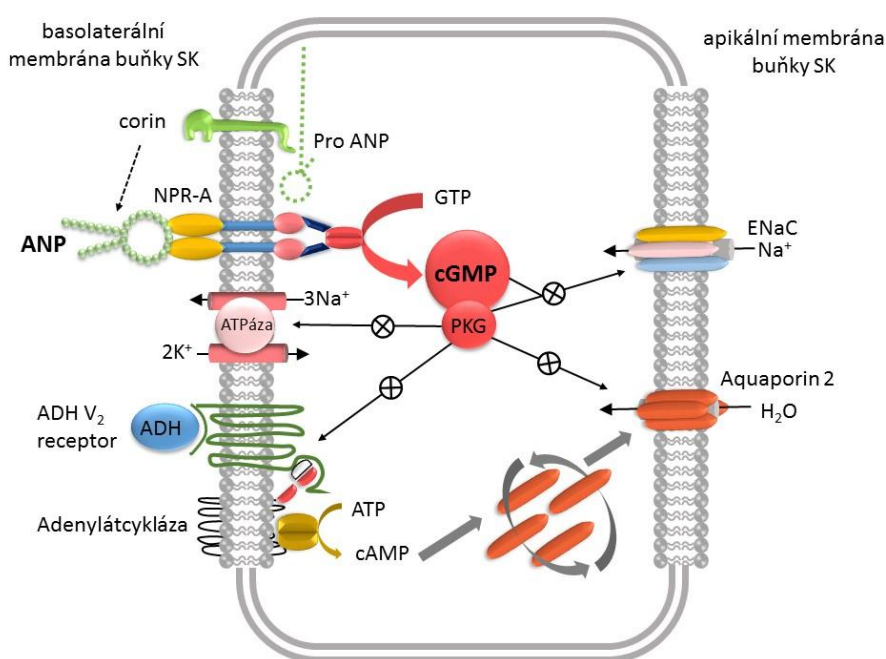
ANP i BNP hrají významnou roli v regulaci krevního tlaku (*Buckley M.G. et al., 1994*) a udržování vodní a elektrolytové homeostázy. Působí vazodilatačně a natriuretický inhibicí resorpce sodíku v proximálním tubulu a sběrném kanálku, nepřímo inhibicí RAAS, vazopresinu a kortikotropinu, inhibují syntézu i vyplavování aldosteronu, oba tlumí pocit žízně. Lokálně působí NP antiremodelačně jak potlačením adenylátcyklázové signální cesty proteinkinázy A tak inhibicí signální cesty fosfolipázy C. NP tak ovlivňují účinky produktů sympatoadrenální aktivity i aktivity RAAS (*Nishikimi E.T. et al., 2006*). Naopak vysoké hladiny ANG II u CHSS způsobují down regulaci receptorů pro NP- NPR-A i NPR-C (*Chabrier P.E. et al. 1988; Gopi V. et al., 2013; Yoshimoto T. et al., 1996*).

Na regulaci krevního tlaku se NP podílejí jednak ovlivněním náplně krevního řečiště, vazomotoriky, tedy cévního odporu, natriurézy a diurézy. Dosavadní nálezy svědčí pro to, že ANP je spíše hormon akutní odpovědi (*Ruskoaho H., 1992*), kdežto BNP spíše ovlivňuje a také odráží dlouhodobý stav krevního oběhu (*Lang C. C. et al., 1991; 1993*).

NP zvyšují v ledvinách glomerulární filtraci ovlivněním filtračního tlaku kontrakcí eferentní a dilatací aferentní arterioly (*Marin-Grez M. et al., 1986*), zvyšují natriurézu a diurézu snížením reabsorpce sodíku a volné vody a snižují sekreci reninu (*Sosa R. E. et al., 1986*). V proximálním tubulu NP inhibují ANG II

stimulovanou zpětnou resorpci sodíku a vody (Harris P. J. *et al.*, 1987). Ve sběracím kanálku (SK) snižují resorpci sodíku inhibicí amilorid-senzitivního kationtového kanálu (ENaC) (Light D. B. *et al.*, 1990). Ovlivnění obou těchto transportních procesů bylo prokázáno pro ANP a je cGMP dependentní. NP ve SK snižují gradient natria inhibicí $3\text{Na}^+/2\text{K}^+$ ATPázy na basolaterální straně membrány buněk SK a také resorpci volné vody bloádou účinku ADH (obr. č. 9).

Studiem účinků ANP byl také prokázán přímý vliv NP na steroidogenezi. ANP inhibuje přímo basální sekreci aldosteronu i sekreci stimulovanou ANG II, adrenokortikotropním hormonem (ACTH), kalemii a PGE_1 v zona glomerulosa kůry nadledvin (Lean A. *et al.*, 1984; Chartier L. *et al.*, 1984). Děje se tak skrze NPR-A receptor, bohatě v kůře nadledvin exprimovaný.



Obrázek č. 9: Mechanismus účinku ANP ve sběracím kanálku ledvin. Receptory pro NP, NPR-A jsou exprimovány na basolaterální straně buněk sběracích kanálků ledvin. Váží jednak cirkulující NP a jednak ANP lokálně produkovaný epitelálními buňkami SK, který je odštěpen z pro-ANP proteázou corinem lokalizovanou v membráně epitelu SK. Signální cesta PKG snižuje reabsorpci natria ve SK fosforylací amilorid senzitivního kanálu pro Na^+ (ENaC) na apikální straně membrány buněk SK. Otevření tohoto kanálu může být také inhibováno cGMP nezávisle na fosforylaci (Light D. B., 1990). Inhibicí $3\text{Na}^+/2\text{K}^+$ ATPázy na basolaterální straně membrány buňky SK je účinkem NPR-A snižován koncentrační gradient pro sodík. NPR-A signální cesta působí také inhibicí resorpce volné vody ve SK. Inhibuje konstituční změnu akvaporinu 2 a vytvoření kanálů pro vodu na apikální straně membrány buňky SK, která je stimulována účinkem ADH na stimulaci adenylátcyklázy.

NP se podílejí na snížení cirkulujícího objemu nejen zvýšením natriurézy a celkové diurézy, ale také redistribucí plazmatických proteinů ovlivněním permeability kapilár. Důsledkem odpovědi ledvin na účinek ANP je zvýšený onkotický tlak plazmy v důsledku vyšší relativní koncentrace proteinů. Posun Starlingových sil by tak mohl působit přesun tekutiny do intravaskulárního prostoru (*Curry F.R.E. et al., 2005*). Proti tomu působí NP jednak snížením intravaskulárního tlaku relaxací svaloviny cév a jednak prostřednictvím receptorů na mikrovaskulárních endoteliích zvýšením propustnosti kapilár (*Sabrane K. et al., 2005*). Tímto mechanismem jsou proteiny přesouvány spolu s tekutinou do extravaskulárního prostoru.

NP moduluje také baroreflexní odpověď. Zvyšují tonus parasymptiku (*Volpe M. et al., 2016*). ANP nebo NP vazebná místa byla doložena v nucleus tractus solitarius, area postrema a aortálním oblouku. Akutní podání ANP snižuje krevní tlak bez vzestupu srdeční frekvence. Ovlivnění chronotropní odpovědi NP zabraňuje podání ACE-I (*Volpe M. et al., 1990*), což naznačuje významný podíl bloku účinku ANG II v modulaci baroreflexní odpovědi.

ANP i BNP nepůsobí jen jako cirkulující endokrinní faktory k udržení tlakové a objemové homeostázy, ale také jako lokální auto a parakrinní faktory působící proti hypertrofii kardiomyocytů (hlavně ANP) (*Holtwick R et al., 2003*) a fibróze (dominantně BNP) (*Tamura N. et al., 2000*). NP tlumí hypertrofický fenotyp kardiomyocytů jak za basálních podmínek, tak při excesivní stimulaci katecholaminy, ANG II i ET-I. Myší modely, které neexprimují NPR-A, vyvinou hypertenzi a hypertrofii myokardu (*Kishimoto I. et al., 2001*) a to i v podmínkách farmakologicky kontrolované systémové hypertenze, tedy nezávisle na zvýšeném afterloadu (*Knowles J.W. et al., 2001*).

NP brání hypertrofickému fenotypu prostřednictvím NPR-A jednak snížením NA indukovaného kalciového overloadu (*Nishikimi E.T. et al., 2006*), inhibicí aktivity mitogenních kináz (MAPK, ERK) (*Bubikat A. et al., 2005*) a inhibicí signální cesty kalcineurinu (NFAT) (*Fiedler B. et al., 2002*). Blokáda kalcineurinu podáním FK-506 vedla u myších modelů neexprimujících NPR-A k snížení hmotnosti myokardu, velikosti kardiomyocytů, objemu kolagenu, poklesu mRNA pro fibronektin a k snížení DNA vazebné aktivity GATA4 (*Tokudome T. et al. 2005*). NP mají antimitogenní účinky na endotelové buňky, buňky hladkého svalstva cév a na kardiomyocyty. V ledvinách NP tlumí proliferaci mesangálních buněk (*Pandey K.N.*

et al., 2000), fibrotizaci parenchymu (*Nishikimi T. et al.*, 2009) a brání poškození podocytů vystavených produktům aktivace RAAS ANG II a aldosteronu (*Ogawa Y. et al.*, 2012).

NP ovlivňují také remodelaci ECM, hlavním mechanismem je působení na fibroblasty. NP neovlivňují genovou expresi nestimulovaných fibroblastů v „klidovém“ stadiu. Naopak tlumí TGF- β stimulovanou transformaci fibroblastů v myofibroblasty a sekreční aktivitu myofibroblastů vystavených tlakovému i objemovému přetížení srdečního svalu a účinnům TGF- β , ANG II, ET-1 i IGF-1 (insulin like growth factor-1) (*Nishikimi T. et al.*, 2006). Signálním mechanismem je PKG-dependentní fosforylace ERK (*Kretzschmar M. et al.*, 1999). Dalším z objevených mechanismů je inhibice vaskulárního endotelového růstového faktoru (VEGF) aktivací NPR-A, což vede k útlumu aktivace MAPK s útlumem efektorových molekul jako jsou AP-1 (activating protein-1) a CREB (cAMP response element-binding protein) (*Tripathi S., Pandey K. N.*, 2012).

NP nesnižují jen produkci komponent ECM fibroblasty, tlumí také produkci růstových faktorů a stimulatorů buněčné proliferace a zánětu včetně IL-11 a ET-1 (*Fujisaki H. et al.*, 1995). Protizánětlivě působí také ovlivněním ANG II mediované signální cesty ET-1, jejíž důsledkem je infiltrace myokardu makrofágy, zvýšená exprese mRNA pro kolagen typu I a III, chemotaktický protein monocytů a prozánětlivé a profibrotické molekuly tenascinu-C (*Fujita S. et al.*, 2013). Dalším protizánětlivým mechanismem je ovlivnění exprese genů pro TNF α , IL-6 a cyklooxygenázu 2 (COX2) (*Kapoun A. M. et al.*, 2004).

Fibroblasty vystavené mechanickému stresu jednak samy produkují BNP a jednak zvýšeně exprimují NPR-A. (*Watson CJ*, 2012). Kromě toho na rozdíl od kardiomyocytů, které dominantně exprimují NPR-A, fibroblasty exprimují v nezanedbatelné míře i NPR-B. Na zvýšení cGMP se tak podílejí jak ANP, BNP tak i CNP. Fibroblasty samy o sobě také CNP produkují (*Horio T. et al.*, 2003). Intenzita potlačení transformace fibroblastů a jejich produkce komponent ECM klesá v pořadí NP CNP > BNP > ANP (*Nishikimi T. et al.*, 2006).

BNP moduluje kromě tvorby komponent i degradaci ECM, tlumí aktivitu tkáňového inhibitoru metaloproteináz, naopak produkce metaloproteináz myofibroblasty je účinkem NP zvýšená (*Tsuruda T. et al.*, 2002). BNP také ovlivňuje infiltraci poškozené tkáně myokardu neutrofily (*Kawakami R. et al.*, 2004). Imunokompetentní buňky samy mohou být zdrojem BNP, doložena byla produkce

BNP T-lymfocyty (CD-3) (*Li Y.Y. et al., 2001*) a makrofágy (CD-68) (*Bruggink A.H. et al., 2006*). Nálezy svědčí pro roli BNP v časně fázi remodelace tkáně.

ANP i BNP mají také významný lipolytický efekt (*Sengenés C. et al., 2000*).

Adipocyty člověka a ostatních primátů exprimují NPR-A, zatímco tukové buňky ostatních savců exprimují převážně NPR-C a k zvýšené lipolýze u nich účinkem NP nedochází (*Sengenés C. et al., 2002*). Přestože NP působí lipolyticky cestou cGMP, výsledný efekt je podobný jako u signální cesty cAMP v případě β agonistů (*Opie LH, Knuuti J., 2009*). Katecholaminy vazbou na β_1 a zejména β_2 receptory účinkují lipolyticky cestou aktivace proteinkinázy A (PKA) a zvýšení koncentrace cAMP (aktivace α_2 receptorů působí opačně). Lipolýza je zahájena hydrolýzou triacylglycerolů (TAG) účinkem tukové triacylglycerolové lipázy (ATGL) za vzniku diacylglycerolů (DAG) a neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK). ATGL je aktivována PKA za asistence proteinu perilipinu-1, který translokuje fosforylované enzymy k místu účinku na povrch tukových kapének. DAG jsou dále štěpeny hormon senzitivní lipázou (HSL) opět aktivovanou PKA. NP působí lipolyticky cestou aktivace proteinkinázy G (PKG), která fosforyluje HSL a perilipin-1. Fosforylovaný perilipin-1 pak umožňuje účinek jak HSL (*Sengenés C. et al., 2003*) tak ATGL. Lipolytický účinek NP je tak nezávislý na PKA. V lidském organismu neobvykle synergický efekt obou signálních cest však vykazuje jeden podstatný rozdíl. Signální cesta cAMP je inhibována inzulínem, který aktivuje fosfodiesterázu 3B, hlavní enzym degradující cAMP v adipocytech, fosfodiesteráza 5A degradující cGMP v tukových buňkách však inzulínem ovlivněna není (*Lafontan M. et al., 2008*).

Vnímavost adipocytů k BNP u nemocných s CHSS neklesá (*Polak J. et al., 2011*). Vysoké hladiny NP u pokročilého srdečního selhání tak mohou přispívat k úbytku tukové tkáně (*Moro C. et al., 2004*) a k syndromu kardiální kachexie. Naopak obézní pacienti mají nižší hladiny NP a to i v případě rozvinutého syndromu CHSS (*Mehra M.R. et al., 2004*). Jde nejspíše o výsledek „bludného kruhu“ metabolického syndromu. Zmnožené adipocyty jednak zvýšeně exprimují NPR-C, čímž je urychleno odbourávání NP a jednak jsou samy k účinkům NP méně vnímavé (*Sarçani R. et al., 2004*).

Všechny tři receptory pro NP jsou ve vysoké míře exprimovány také v plicích. Aktivací NPR-A účinkují NP bronchodilatačně u zdravých i u astmatických

pacientů (*Hamad A.M. et al., 2003*). Všechny tři včetně CNP (*Itoh T. et al. 2004*) snižují plicní hypertenzi.

1.3.9 Snížená účinnost natriuretických peptidů ve stadiu pokročilého CHSS

Přestože v pokročilých fázích syndromu CHSS nalézáme vysoké hladiny NP, biologická odpověď organismu ve smyslu snížení retence tekutin a vazodilatace není těmto koncentracím úměrná. Je zřejmé, že dochází k snížení citlivosti cílových struktur k účinkům NP. Malé studie prokázaly, že podání ANP (*Cody R.J. et al. 1986*) i BNP (*Jensen K.T. et al. 1999*) nemocným s CHSS vyvolá menší diuretickou odpověď a menší vzestup hladiny cGMP v plazmě i v moči (*Eiskejaer H. et al., 1991*) než u zdravých jedinců. Také vazodilační odpověď na podání BNP (*Nakamura M. et al. 1998*) a ANP byla u pacientů se srdečním selháním menší (*Nakamura M. et al. 1994*). Vnímavost kapacitních cév k ANP však zůstává na rozdíl od arterií i v podmínkách srdečního selhání zachovalá (*Schmitt M. et al. 2004*).

U CHSS je také oslabena endokrinní odpověď na NP. Parenterální podání ANP nemocným s CHSS v malých studiích nevedlo k tak významnému potlačení plazmatické reninové aktivity, koncentrace aldosteronu, NA a vazopresinu jako u zdravých jedinců (*Cody R.J. et al. 1986; Anand I.S. et al., 1989*).

Důvodů, proč lidský organismus méně reaguje v podmínkách pokročilého CHSS na zvýšené hladiny cirkulujících NP, je zřejmě řada. Jedním z nich může být situace, kdy sice komerčními metodikami detekujeme vysoké koncentrace BNP, avšak převažují méně účinné zkrácené molekuly. U CHSS byla zjištěna vyšší aktivita enzymu DPP IV (*dos Santos L. et al., 2013*), který štěpí aktivní BNP 1-32 v plazmě na zkrácené formy (*Liang F. et al., 2007*). Nápadné je, že inhibice DPP IV ve zvířecím experimentu vede k zlepšení ledvinových a srdečních funkcí (*Gomez N. et al., 2012*). Dalším problémem je vysoká koncentrace glykosylovaných forem pro-BNP u CHSS, které jsou rezistentní k proteázám corinu a furinu. (*Semenov A.G. et al., 2010*). Proces maturace ANP může vykazovat podobné enzymatické změny.

Důležitou roli může hrát i zvýšená degradace NP neprilysinem, jehož aktivita a exprese NEP mRNA se v kardiomyocytech i nemyocytárních buňkách srdečního svalu s progresí syndromu CHSS zvyšuje a koreluje s mírou napětí stěny myokardu (*Fielitz J. Et al., 2002*). V selhávajícím myokardu byla také prokázána vyšší exprese clearancového receptoru NPR-C s následnou sníženou koncentrací cGMP v reakci na podání NP. Reverzní remodelace myokardu navozená implantací LVAD vedla

v téže studii k normalizaci koncentrace mRNA pro NPR-C a k vzestupu aktivity guanylátcyklázy (Kubn M. *et al.*, 2004).

Zvýšená degradace NP a zvýšení poměru zkrácených méně účinných forem BNP v pokročilých fázích syndromu však stále nevysvětlují nižší citlivost cílových tkání. Použitím radionuklidem značeného analogu NP, který se preferenčně váže k NPR-A, byla prokázána down-regulace receptoru v kardiomyocytech a endoteliálních a hladkých svalových buňkách intramyocytárních cév selhávajícího lidského myokardu (Singh G. *et al.*, 2006). Podobně jako u β -receptorů byla v selhávajícím myokardu pozorována homologní (Schröter J. *et al.*, 2010) i heterologní desenzitizace, která pravděpodobně souvisí s kalciovým „overloadem“ a signální cestou kalcineurinu (Fortin Y., De Léan A., 2006). Pro správnou funkci receptorů pro NP je také nezbytná jejich glykosylace, pokud je porušena, snižuje se schopnost receptoru vázat ligand (Koller K. *et al.*, 1993; Fenrick R. *et al.*, 1996). Zda a do jaké míry je u pokročilého CHSS glykosylace nedostatečná nebo nesprávná, zatím není jasné.

Na snížené vnímavosti cílových struktur k NP se může u pokročilého CHSS podílet nižší koncentrace cGMP v důsledku zvýšené aktivity fosfodiesterázy -5 (PDE-5). Akutní podání inhibitoru PDE-5 psům s tachykardií indukovaným srdečním selháním mělo podobnou hemodynamickou odpověď jako podání exogenního BNP, efekt obou látek byl aditivní (Forfia P.R. *et al.*, 2007).

Účinky NP negativně ovlivňují také produkty vystupňované neurohumorální aktivace. ANG II sice v podmínkách CHSS stimuluje vyplavování NP do oběhu (Focaccio V. *et al.* 1993), ale zároveň negativně ovlivňuje jejich signální cesty (Haneda M. *et al.*, 1991) a způsobuje down-regulaci jejich receptorů (Charloux A. *et al.* 2003). ANG I navíc zvyšuje aktivitu NEP (Gwathmey T.M. *et al.*, 2010). Podobně jako ANG II i ET-1 zvyšuje vyplavování BNP a zároveň snižuje jeho účinek. Podávání darusentanu, antagonisty endotelinu, po tři týdny pacientům s CHSS sice vedlo k snížení hladin BNP, ale významně vzrostl poměr BNP/cGMP ve prospěch druhého posla (Philipp S. *et al.*, 2002; Bergler-Klein J. *et al.*, 2004). Aktivovaný sympatikus se zřejmě také podílí na snížení účinků NP. Výsledky experimentů s účinky NP v denervovaných ledvinách v podmínkách CHSS nebyly konzistentní (Awazu M. *et al.*, 1991; Patel K.P. *et al.* 1996), podání α_2 adrenergního agonisty klonidinu však jasně zvýšilo natriuretický a diuretický účinek ANP (Feng Q.P. *et al.*, 1990). Mechanismy desenzitizace nejsou doposud plně objasněny. Jde nejspíše o

mozaiku procesů, které z nich jsou u pokročilého CHSS nejvýznamnější, však dosud nevíme.

1.3.10 Využití natriuretické peptidů v léčbě srdečního selhání

Příznivé účinky NP vedly k myšlence jejich léčebného využití. V roce 2001 byl Americkou lékovou agenturou (FDA) pro léčbu akutně dekompenzovaného srdečního selhání schválen nesiritide, rekombinantní forma BNP. Podkladem byly výsledky několika pilotních studií, které ukazovaly snížení tlaku v plicnici v zaklínění a zlepšení dušnosti, posuzované obvykle za 3 hodiny po léčbě (*Colluci W.S. et al., 2000*). Bohužel následné studie tyto příznivé efekty nepotvrdily, metaanalýzy dokonce naznačovaly riziko zhoršení funkce ledvin a vyšší úmrtnost nesiritidem léčených pacientů (*Sackner-Bernstein J.D. et al., Circulation 2005, JAMA 2005*). Definitivní odpověď přinesla až randomizovaná studie provedená u více než 7000 pacientů (*O'Connor C.M. et al., 2011*). Nesiritide byl podáván v kontinuální infúzi po dobu 24 hodin - 7 dní. V léčené skupině bylo zaznamenáno mírné zlepšení dušnosti (za 6 hodin po začátku léčby), avšak žádné snížení úmrtnosti nebo hospitalizace pro srdeční selhání do 30 dnů (primární cíl). U pacientů v léčené skupině byl pozorován vyšší výskyt hypotenze, nebylo potvrzeno zhoršení funkce ledvin. Výsledky studie přirozeně vedly k ochladnutí zájmu o tento způsob léčby, v evropských zemích nebyl nesiritid nikdy schválen.

Další logickou myšlenkou bylo testovat inhibitor neprilysinu s cílem potlačení degradace NP. Podávání ecadotrilu v randomizované klinické studii u pacientů s CHSS NYHA II a III proti placebo vedlo ke zvýšení hladin cGMP závislém na dávce. Inhibitor neprilysinu však nezpůsobil pokles plazmatické reninové aktivity a nesnížil hladiny ANG II a ET-1 (*Cleland J.G. et al. 1998*). Vzhledem k tomu, že u pacientů v intervenované skupině nedošlo ani k zlepšení symptomů, nebyl ecadotril stejně jako jeho předchůdce candoxatril dále vyvíjen a testován. Substráty neprilysinu v RAAS systému ukazuje **obrázek č. 1**. Neprilysin štěpí také ANG I za vzniku příznivě působícího angiotenzinu 1-7. Blokáda neprilysinu tak způsobuje mimo jiné zvýšení produkce ANG II (*Rice G.I. et al., 2004*). Tento efekt potlačí současná inhibice neprilysinu a angiotenzin-konvertujícího enzymu inhibitorem vazopeptidáz. Prvním lékem s vlastností vazopeptidázy, která inhibuje neprilysin, ACE a aminopeptidázu P byl omapatrilát. Po dvanácti týdnech léčby nemocných s CHSS omapatrilátem bylo zaznamenáno zvýšení plazmatických hladin ANP,

BNP a cGMP a snížení aktivity ACE testovaných jedinců (*McClean D.R. et al., 2002*). Omapatrilát však nebyl v dosavadních studiích statisticky významně účinnější v prevenci úmrtí a hospitalizace než monoterapie enalapilem (*Packer M. et al. 2002*) nebo lisinopilem (*Rouleau J.L. et al., 2002*). Navíc molekula inhibuje tři enzymy, které inaktivují bradykinin, což se projevilo vysokým výskytem angioedému. Omapatrilát tak nesplnil představy o vyváženém léčebném zásahu do aktivovaných systémů.

Novou nadějí se stal lék kombinovaný ze dvou molekul, blokátoru AT₁ receptorů pro ANG II valsartanu a sacubitrilu – pro-inhibitoru neprilysinu. Sacubitril/valsartan podávaný nemocným v randomizované dvojité zaslepené studii s 8399 pacienty proti enalaprilu významně snížil celkovou i kardiovaskulární mortalitu (*Packer M. et al., 2015*). Zda samotné zvýšení koncentrace NP bloádou neprilysinu bez dalšího ovlivnění signální cesty přinese příznivý „plošný“ efekt v populaci nemocných s CHSS ukáže několik následujících let.

1.3.11 Úloha BNP v diagnostice a prognostické stratifikaci nemocných s CHSS

Hladiny NP, konkrétně cirkulujícího ANP byly poprvé měřeny u pacientů v časných osmdesátých letech. Profesor John Burnett z Mayo Clinic v té době měřil hladiny ANP zdravým dobrovolníkům, nemocným s kardiovaskulárními chorobami včetně srdečního selhání (*Burnett JC et al., 1986*). Použil metodiku vypracovanou profesorem Adolfo J Boldem. (*de Bold A.J. et al., 1981*).

Plazmatické hladiny ANP se u zdravých jedinců pohybují kolem 20ng/l, u pacientů se srdečním selháním mohou být až stonásobné (*Cody R.J. et al., 1986*). Také BNP i NT-pro BNP vykazují v podmínkách srdečního selhání velký proporcionální vzestup koncentrací v plazmě (*Hunt P. J. et al., 1997; Wei C. M. et al., 1993*). V diagnostice a prognostické stratifikaci nemocných jsou vhodnější, jelikož jsou v plazmě stabilnější a mají delší biologický poločas než ANP (*Murdoch D.R., et al. 1997*). **Tabulka č. 2** ukazuje současné indikace k testování BNP a NT-proBNP podle doporučení American Heart Asociation (AHA) (*Yancy C.W. et al., 2013*).

U zdravých jedinců jsou plazmatické koncentrace BNP a NT-pro BNP velmi nízké. V diagnostice srdečního selhání jsou oddělovací hodnoty NT-proBNP 300

ng/l v případě akutního srdečního selhání a 125 ng/l při CHSS. Pro BNP je oddělovací hodnotou u akutního srdečního selhání 100 a u CHSS 35 ng / l.

Indikace	Třída doporučení- úroveň evidence
Diagnostika u pacienta s dušností (akutní)	I-A
Diagnostika u pacienta s dušností (ambulantní)	I-A
Prognóza u nemocného se známým srdečním selháním (akutní)	I-A
Prognóza u nemocného se známým srdečním selháním (ambulantní)	I-A
Monitorace k dosažení doporučené medikace	II-B
Monitorací NP vedená terapie CHSS	II-B

Tabulka č. 2: Indikace k testování BNP a NT-proBNP.

Negativní prediktivní hodnoty pro tyto hladiny jsou podobné a vysoké (0.94–0.98) v případě akutního i chronického srdečního selhání. Pozitivní prediktivní hodnoty jsou nižší jak pro chronické (0.44–0.57) tak i akutní (0.66–0.67) stavy. Stanovení NP je tak přínosnější pro vyloučení srdečního selhání (*Ponikvarski P. et al. 2016; McMurray J.J. et al., 2012*).

Stanovení hladin BNP dnes již představuje rutinní metodu přínosnou pro diagnostiku srdečního selhání (*Maisel A.S. et al., 2002; 2003; Jannuzzi J.L. et al., 2006*), posouzení prognózy a monitoraci efektu léčby nemocných s CHSS. Koncentrace BNP jsou výrazně ovlivňovány účinnou farmakoterapií i nefarmakologickými postupy léčby CHSS (*Málek I., Hegarová M., 2009*).

Pokles hladiny BNP během léčby odráží pokles plnicích tlaků srdečních komor (*Knebel F. et al., 2005*), snížení BNP po optimalizaci léčby je spojeno s příznivou krátkodobou (*Bettencourt P. et al., 2004*) i dlouhodobou (*Kociol R.D. et al., 2011*) prognózou. Zvýšené hladiny BNP predikují úmrtí na progresi srdečního selhání, nutnost urgentní OTS i náhlou srdeční smrt (*Berger R. et al., 2002*).

1.3.12 Klinický výzkum přínosu BNP u nemocných s pokročilým CHSS na našem pracovišti

Na našem pracovišti se již mnoho let věnujeme klinickému výzkumu v oblasti hodnocení přínosu opakovaného vyšetření BNP u nemocných s recentním a pokročilým srdečním selháním. V souboru nemocných s časným selháním neischemické etiologie jsme doložili, že normalizace hladiny BNP v průběhu léčby předchází v časovém předstihu několika měsíců reverzní remodelaci myokardu (*Hegarová M. et al., 2009*). Soubor nemocných byl v dalších letech rozšířen, Miloš Kubánek a spolupracovníci pak sledovali další prediktory reverzní remodelace myokardu včetně využití nálezů magnetické rezonance (*Kubánek M. et al., 2013*). V problematice pokročilého CHSS nás zajímal zejména vztah hladin BNP a hemodynamických nálezů. Doložili jsme, že BNP pomáhá u nemocných s pokročilým CHSS při posouzení vzniku a vývoje plicní hypertenze (*Kubánek M. et al., 2005*). U nemocných s potvrzenou plicní hypertenzí se BNP ukázalo jako vhodný neinvazivní ukazatel v posouzení plicní vazodilatační léčby, konkrétně sildenafilu (*Melenovský V. et al., 2009*). V prognostické stratifikaci nemocných s pokročilým CHSS jsme se mimo jiné věnovali srovnání s nálezy při spiroergometrii. V souboru nemocných s pokročilým CHSS jsme našli významnou korelaci mezi změnou hladiny BNP a změnou parametru VE/VCO₂ slope, který odráží míru hyperventilace při zátěži a je významným ukazatelem špatné prognózy (*Hegarová M. et al., 2008*). Díky výsledkům vlastního klinického výzkumu umíme pracovat s BNP jako prognostickým ukazatelem i ukazatelem efektu léčby u CHSS, kde převážná většina nemocných měla ICHS nebo DKMP. Dosud jsme však neměli dostatek zkušeností s přínosem monitorování BNP u nemocných s pokročilým CHSS s vrozenými srdečními vadami a nemocných s implantovanými mechanickými srdečními podporami.

2. BNP jako prognostický faktor u nemocných s pokročilým CHSS při vrozených srdečních vadách se systémovou pravou komorou

2.1 Úvod do problematiky

2.1.1 Vrozené srdeční vady s pravou komorou v systémové pozici

Většina dospělých nemocných s pravou komorou v systémové pozici (SRV, systemic right ventricle) má vrozenou srdeční vadu (VSV) - D- transpozici velkých tepen (D-TGA, D= dextropozice aorty), aorty a plicnice. D-TGA představuje asi 5% VSV. Vada je charakterizována dextropozicí systémové komory, sinistropozicí subpulmonální morfologicky levé komory, a pravostrannou rotací velkých tepen. Srdeční dutiny jsou uspořádány v atrioventrikulární konkordanci a ventrikuloarteriální diskordanci. Velké cévy se nekříží a probíhají paralelně. V důsledku zachované levostranné pozice plicního žilního návratu a pravostranné pozice systémového žilního návratu je v podstatě systémová a plicní cirkulace oddělena. Dvě třetiny nemocných nemají další přidružené defekty, třetina má tzv. komplexní transpozici, která je spojena s dalšími vadami, nejčastěji defektem komorového septa a pulmonální stenózou (*Popelová J., 2003*). Tito nemocní prodělali v raném dětství v 70. a 80. letech korekční operaci, tzv. atriální „switch“ (ASO) pomocí intraatriálních tunelů vytvořených z perikardu (Mustardova korekce) nebo ze stěny pravé síně a síňového septa (Senningova korekce) s derivací toku krve z dutých žil nad mitrální chlopeč a z plicních žil nad trikuspidální chlopeč. Tato operace propojí původně paralelně oddělené cirkulace, nicméně morfologicky pravá komora zůstává nadále v systémové pozici (*Warnes C.A., 2006*). V současné době tak přicházejí do kardiocentra s transplantačním programem nemocní v dospělém věku s dysfunkcí pravé komory v systémové pozici. Nemocní operovaní v pozdějších letech prodělali již tzv. arteriální „switch“ (*Diller G.P., 2014*), výsledkem čehož je pravá komora zapojena již v malém oběhu.

Méně častou vrozenou vadou s pravou komorou v systémové pozici je vrozeně korigovaná TGA (ccTGA), kdy je morfologicky pravá komora v sinistropozici zapojena jako systémová s dextropozicí subpulmonální morfologicky levé komory a je přítomna levostranná rotace velkých arterií. Srdeční dutiny jsou uspořádány v atrioventrikulární diskordanci současně s ventrikuloarteriální

diskordancí, cirkulace je tedy fyziologická, morfologicky pravá komory však pracuje v systémovém oběhu (Popelová J., 2003).

Pravá komora v systémové pozici je na rozdíl od levé komory tenkostěnná, má odlišný tvar a architekturu kardiomyocytů a jemnou trikuspidální chlopně. V dlouhodobém průběhu je u těchto nemocných zvýšené riziko rozvoje regurgitace na systémové atrioventrikulární chlopni, dilatace systémové pravé komory a vývoje její systolické dysfunkce. U obou skupin nemocných, jak těch s D-TGA i s ccTGA jsou tyto nálezy spojeny se zhoršením prognózy (Doughan A.R. et al., 2007; Hechter S.J., 2001; Dore A. et al., 2005, van der Bom T., 2013). Stav může vyvrcholit až rozvojem pokročilého chronického srdečního selhání, které si vynutí indikaci k transplantaci srdce.

Nemáme přesvědčivé důkazy o příznivém efektu konvenční léčby CHSS beta-blokátory, inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu, blokátory receptorů pro angiotenzin a blokátory mineralokortikoidních receptorů na prognózu nemocných se systolickou dysfunkcí SRV, výsledky dostupných studií jsou nejednoznačné (Noruzi K., 2008; Doughan A.R. et al., 2007; Hechter S.J., 2001; Dore A. et al., 2005; van der Bom T., 2013; Dos L. et al., 2013). Léčba a prognostická stratifikace dospělých pacientů s těžkou systolickou dysfunkcí SRV je obecně obtížná, protože CHSS může i u stabilních pacientů ve funkční třídě NYHA II postupovat neočekávaně rychle, a velmi brzy dospět do konečného stadia, které lze zvrátit pouze ortotopickou transplantací srdce (OTS).

Ačkoliv diagnóza VVS představuje sama o sobě významný rizikový faktor pro časnou mortalitu po OTS, je tato metoda pro nemocné přínosná (Besik J. et al., 2016). Vyšší časná úmrtnost může být způsobena komplikovanou anatomickou situací, přítomností srůstů a vymizením perikardiálního prostoru po předchozích korekčních operacích. Dalším problémem je imunologická senzitivizace těchto pacientů. Nicméně dlouhodobé přežívání těchto nemocných po OTS je velmi dobré (Lund L.H. et al., 2015), jde totiž většinou o mladé nemocné s nízkým výskytem přidružených onemocnění (Patel N.D. et al., 2009). Transplantaci srdce samotnou však lze v důsledku omezeného počtu vhodných dárců obtížně načasovat. Navíc pacienti s vrozenými srdečními vadami jsou obvykle na čekací listině k transplantaci zařazeni déle v důsledku specifických požadavků na dárce a potřebě zkušeného kardiochirurga (Davies R.R. et al., 2011; Goldberg S.W. et al., 2014; Maxwell B.G., 2014). Další výzvou se tak stává správné načasování implantace

mechanické srdeční podpory těmto nemocným jako mostu k dožití vhodného dárce (Peng E. et al., 2014).

2.1.2 Současné poznatky o roli monitorování BNP u nemocných se systémovou pravou komorou

Role BNP v prognostické stratifikaci nemocných s vrozenými vadami obecně není dosud jasná. Je zřejmé, že nelze studovat nehomogenní soubory nemocných s různými typy vrozených srdečních vad. Výpovědní hodnota hladin BNP je napříč diagnózami odlišná (Eindhoven J.A. et al., 2013).

Při studiu prací soustředěných na pacienty s vrozenými vadami s pravou komorou v systémové pozici jsme nenalezli informace o příspěvku BNP ve fázích rozvinutého syndromu CHSS a v procesu načasování srdeční transplantace a implantace mechanické srdeční podpory.

V nedávné holandské studii (Cuypers J.A.A.E. et al., 2014) autoři popsali kumulativní přežití pacientů s D-TGA po provedené ASO podle Mustarda nebo Senninga 80% po 20 letech, 77% po 30 letech a 68 po 39 letech. Wilson ve své studii (Wilson N.J. et al., 1998) popsal 80% přeživších 28 let po ASO dle Mustarda na Novém Zélandu. Další studie (Piran S. et al., 2002) popsala rozvoj srdečního selhání u 20% nemocných po ASO a u 30% pacientů s ccTGA. Mezi nejvýznamnější prognostické faktory rozvoje CHSS byly identifikovány NYHA funkční třída a přítomnost systolické dysfunkce SRV.

Dostupné studie však prokázaly pouze málo významnou korelaci BNP a nebo NT-proBNP s funkčním stavem a mírou systolické dysfunkce SRV. Koch a spoluautoři (Koch A.M. et al., 2008) popsali soubor 48 dospělých nemocných s D-TGA (n=41) a ccTGA (n=7). 85% pacientů bylo v NYHA třídě I, ostatní v NYHA třídě II. Hladiny BNP byly v souboru velmi nízké, všichni jedinci měli hladinu BNP menší než 200ng/l, více než polovina z nich dokonce nižší než 20ng/l. Hladiny BNP korelovaly s významností trikuspidální regurgitace, negativně korelovaly s vrcholovou spotřebou kyslíku při spiroergometrii. Nebyla nalezena korelace hladin s frakčním zkrácením ani diastolickým rozměrem SRV.

V práci autorů z univerzity v Hongkongu (Chow P.C. et al., 2008) byly hodnoceny hladiny BNP a parametry funkce SRV měřené pomocí tkáňové dopplerovské echokardiografie u 44 pacientů s D-TGA (35 po Senningově a 9 po

Mustardově korekci). Autoři shledali pouze středně významnou korelaci mezi hladinami BNP a parametry funkce SRV.

Slovinští autoři (*Koželj M. et al., 2015*) doložili korelaci mezi zhoršením systolické funkce SRV a zvýšením hladiny N-terminálního proBNP. Prospektivně sledovali 19 dospělých pacientů s ccTGA po dobu šesti let. 90% nemocných bylo vstupně ve funkční třídě NYHA I a II. Téměř 70% pacientů mělo vstupně normální systolickou funkci SRV měřenou pomocí MR a CT, pouze 30% mělo systémovou komoru lehce dysfunkční. Během sledování zemřeli dva nemocní na srdeční selhání. Kromě těchto pacientů nedošlo v průběhu sledování k zhoršení funkční třídy NYHA. Celková systolická funkce SRV poklesla za šest let z $48,3 \pm 13,7\%$ na $42,7 \pm 12,7\%$, $p=0,001$. Průměrná hladina NT-proBNP vzrostla během sledování ze 127 ng/l (82,3-305,8) na 226ng/l (112,5-753,0), $p=0,022$. Vzestup hladin pozitivně koreloval se změnou systolické funkce SRV, $p=0,52$, $p=0,032$.

Readle-Hurst (*Raedle-Hurst TM, 2010*) dokumentovala v publikovaném kazuistickém sdělení pozitivní korelaci vzestupu hladin NT-proBNP s progresí klinického stavu a zhoršením funkce SRV u 26 leté pacientky s ccTGA. Případ je zajímavý proto, že autorka zdokumentovala vzestup hladiny NT-proBNP, který předcházela zjevnému klinickému zhoršení pacientky.

Pouze dvě dostupné studie byly skutečně zaměřené prognosticky. Do studie Larssona a spol. (*Larsson D.A. et al., 2007*) bylo zařazeno 43 pacientů se SRV, 27 s D-TGA po ASO a 16 s ccTGA. Pouze 21 z nich mělo systolickou dysfunkci SRV (s ejekční frakcí $\leq 45\%$) a v průběhu sledování došlo k jednomu úmrtí. V důsledku toho zjevně nemohla studie doložit prognostický význam natriuretických peptidů. Stefanie Habbergerová našla hodnotu optimálně predikující nekomplikovaný průběh u pacientů s TGA po ASO ($n=89$) $\leq 85\text{ng/l}$ (*Habberger S. et al., 2015*). Většina těchto pacientů však neměla pokročilé srdeční selhání, 91% z nich bylo ve funkční třídě NYHA I a II. V celém souboru došlo během 48 měsíčního sledování k jednomu úmrtí, 3 nemocní byli transplantováni a 8 nemocných prodělalo epizodu dekompenzace CHSS. Navíc ve studii nebyla popsána echokardiografická data.

2.2. Vlastní příspěvek k problematice

2.2.1 Hypotéza

Testovali jsme hypotézu, že

1/ stanovení BNP při prvním vyšetření může sloužit jako prediktor prognózy u nemocných s pokročilým chronickým srdečním selháním s vrozenou vadou srdeční s těžkou systolickou dysfunkcí pravé srdeční komory v systémové pozici.

2/ stanovení BNP bude ve srovnání se známými faktory negativní prognózy nejsilnějším ukazatelem.

3/ stanovení BNP pomůže v identifikaci pacientů s VVS a těžkou systolickou dysfunkcí SRV, kteří mají vysoké riziko terminálního srdečního selhání s potřebou urgentní OTS nebo implantace mechanické srdeční podpory.

2.2.2 Pacienti a metodika

Provedli jsme retrospektivní analýzu všech nemocných, kteří byli referováni do kardiocentra IKEM ke zvážení transplantace srdce v období od května 2007 do října 2014. Shromáždili jsme demografická, klinická, laboratorní a echokardiografická data z výsledků vyšetření provedených při prvním vyšetření z interní databáze našeho kardiocentra. Dávky léků zaměřených na léčbu chronického srdečního selhání, inhibitorů angiotenzin konvertujícího enzymu, blokátorů receptorů pro angiotenzin a betablokátorů byly vyjádřeny jako procento maximální doporučené dávky podle v té době platných doporučení Evropské kardiologické společnosti (*McMurray J. J. et al., 2012*). Nemocní byli sledováni do 30. července 2015. Primárními endpointy studie byly úmrtí, urgentní transplantace srdce nebo implantace mechanické srdeční podpory. Tyto události jsme považovali za ekvivalent konečného stádia srdečního selhání.

Náš soubor sestával z 28 konsekutivních pacientů se SRV. Tato skupina zahrnovala 21 nemocných (75%) po ASO pro D-TGA (14 nemocných po Mustardově a 7 po Senningově korekci) a 7 nemocných (25%) s vrozeně korigovanou transpozicí velkých cév. Přidružené vady korigované v průběhu primární korekční operace byly následující: defekt komorového septa u 6 nemocných po ASO, defekt komorového a síňového septa u jednoho nemocného s ccTGA, a defekt komorového septa a stenóza pulmonální chlopně u dalšího

pacienta s ccTGA. Pět nemocných prodělalo reoperaci: 3 nemocní po ASO a jeden s ccTGA měli provedenu náhradu trikuspidální chlopně, u dalšího nemocného po ASO byla nahrazena aortální chlopeň pro významnou regurgitaci.

Všech 20 mužů (71%) a 8 žen (29%) průměrného věku 34 let (15-65 let) mělo při prvním vyšetření těžkou systolickou dysfunkci SRV s průměrnou ejekční frakcí (EF) $23 \pm 6\%$ (14% - 35%). Medián plazmatické hladiny BNP měřené při vstupním vyšetření byl 618 ng/L (interkvartilové rozpětí [IQR] 86.5- 1363.5).

2.2.3 Laboratorní metody

Vzorky krve pro stanovení plazmatických hladin BNP byly odebrány do zkumavek obsahujících kyselinu ethylendiamintetraoctovou (EDTA) (1mg/ml) a aprotinin (500 U/ml kallikrein inaktivátoru). Zkumavky byly neprodleně centrifugovány. Hladiny BNP byly měřeny chemiluminiscentní imunoesejí (Abbott Laboratories, Diagnostics Division, Abbott Park, USA Illinois, dodavatel: Abbott, Max-Planck-Ring 2, Wiesbaden, Germany). Spodní limit pro detekci byl 10 ng/l, koeficient variance v rámci eseje (CV) byl <3.8%, a koeficient variance mezi esejemi CV byl <5.3%. Pro stanovení hladiny kreatininu v séru byla použita enzymová analýza (Abbott Architect Creatinine, catalogue No. 8L24-31, Abbott Laboratories Inc., Abbott Park, IL, USA).

2.2.4 Echokardiografie

Echokardiografické vyšetření bylo provedeno zkušenými lékaři podle doporučených postupů Americké společnosti pro echokardiografii (*Quinones M.A. et al., 2002, Lang R.M. et al., 2005*). Standardizované vyšetření parasternálních a hrotových projekcí bylo provedeno na ultrazvukovém přístroji Vivid7 a Vivid9 (GE HealthCare, Horten, Norsko) za použití 2- rozměrné sondy. Získané 4- dutinové, 2- dutinové a projekce z dlouhé osy byly pořízeny s vysokou vzorkovací rychlostí (frame rate) a za optimálního nastavení obrazu (hloubka, šíře výseče a zisk – tzv. gain obrazu). Všechny smyčky byly uloženy a analyzovány offline na komerčně dostupném softwaru EchoPac BT12 (GE, HealthCare). End-diastolický rozměr anatomicky pravé komory byl měřený v 4- dutinové projekci v bazální části PK nad trikuspidální chlopní. Objemy a systolická funkce PK byly měřeny za použití frakčního zkrácení plochy (fractional area change, FAC). End-diastolický

rozměr anatomicky levé komory byl měřený v parasternální dlouhé ose. Objemy a systolická funkce LK (EFLK) byly získány na základě biplanární diskové metody. Hodnocení systolické dysfunkce LK bylo následovné: žádná (EFLK > 55%), lehká (EFLK 46-55%), střední (EFLK 36-45%) a významná (EFLK ≤35%). Atrioventrikulární chlopenní regurgitace byly hodnoceny semikvantitativně Dopplerovskými metodami (barevné, pulzní a kontinuální Dopplerovské měření).

2.2.5 Statistická analýza

K popisu spojitých veličin s gaussovskou distribucí jsme použili průměr a směrodatnou odchylku. Pro spojité veličiny, které tuto distribuci neměly, jsme použili medián a interkvartilové rozpětí. K popisu diskrétních jsme využili absolutní a relativní četnosti.

K ověření hypotézy gaussovského rozložení byl použit Kolmogorov-Smirnovův test. K zamítnutí nulové hypotézy pro spojité gaussovské veličiny byl použit dvoustranný Studentův t-test, pro negaussovské pak Mann-Whitneyho test.

Pro testování diskrétních veličin jsme zvolili χ^2 -test v kontingenčních tabulkách a v případě, že očekávané četnosti byly < 5 jsme aplikovali Fisherův test.

K odhadu výskytu událostí v čase jsme použili Kaplan-Meierovu metodu.

Univariátní Coxův regresní model byl použit pro hledání prediktorů doby do události.

Receiver operating characteristics curve (ROC) analýzu jsme použili pro posouzení prediktivní schopnosti vybraných veličin pomocí stanovení plochy pod křivkou (AUC). ROC analýza nám také umožnila najít optimální hodnotu vybraných veličin pro předpověď událostí. Ve všech analýzách jsme považovali za statisticky významnou hladinu významnosti (p) menší než 5%.

2.2.6 Výsledky

Události v průběhu sledování

V průběhu sledování (medián 29 měsíců, IQR 9-50) dosáhlo primárního cíle 14 nemocných. Tři zemřeli (11%) v terminální fázi srdečního selhání po 5, 14 a 15 měsících sledování.

		Příznivý průběh (Skupina A) n=14	Nepříznivý průběh (Skupina B) n=14	Porovnání skupin A proti B (p=)
Věk (roky)		36.4 ± 15.3	31.5 ± 7.9	0.302
Pohlaví (muži/ženy)		8 (57%)/6 (43%)	12 (86%)/2 (14%)	0.209
Body mass index (kg/m²)		23.9 ± 4.1	23.4 ± 3.3	0.306
TGA po ASO		10 (71%)	11 (79%)	1.0
Typ ASO: Mustard/Senning		5 (36%)/5 (36%)	9 (64%)/2 (14%)	0.276
Vrozeně korigovaná TGA (ccTGA)		4 (29%)	3 (21%)	1.0
Přidružené nálezy řešené při primární korekci		5 (36%)	3 (20%)	0.678
Reoperace-náhrada trikuspidální chlopně		3 (21%)	1 (7%)	0.596
Reoperace – náhrada aortální chlopně		0	1 (7%)	1.0
Implantabilní kardioverter- defibrilátor		4 (29%)	6 (43%)	0.695
Epizoda dekompenzace v posledních 12 měsících		1 (7%)	14 (100%)	0.000 ***
Funkční třída NYHA	I	5 (36%)	0	0.000 ***
	II	8 (57%)	0	
	III	1 (7%)	8 (57%)	
	IV	0	6 (43%)	
Srdeční frekvence (pulzů/min)		64 ± 19	83 ± 18	0.006 **
Systolický tlak krve (mm Hg)		117 ± 9	108 ± 14	0.016 *
Srdeční rytmus (sinus/fibrilace síní/stimulovaný)		12(86%)/2 (14%)/0	9(64%)/ 1(7%)/4(29%)	0.092
Šíře QRS		121 ± 27	157 ± 32	0.004 **
Natrium v séru (mmol/l)		138.0 ± 2.0	136.2 ± 4.2	0.166
Kreatinin v séru (μmol/l)		77 (66-87)	97 (81-113)	0.005 **
Glomerulární filtrace (ml/min)		122 ± 41	101 ± 39	0.186
B-natriuretický peptid (ng/l)		91 (64-173)	1342 (1071- 3301)	0.000 ***
End-diastolický rozměr SVR (mm)		53 ± 12	59 ± 16	0.346
Ejekční frakce SRV (%)		26.4 ± 5.7	19.2 ± 3.4	0.001 **
Regurgitace na systémové atrioventrikulární chlopni	lehká	4 (29%)	0	0.037 *
	střední	3(21%)	2 (14%)	
	významná	4(29%)	11 (79%)	
	náhrada	3 (21%)	1(7%)	
Systolická dysfunkce subpulmonální komory	žádná	14 (100%)	1 (7%)	0.000 ***
	lehká	0	3 (21%)	
	střední	0	4 (29%)	
	těžká	0	6 (43%)	

	Příznivý průběh (Skupina A) n=14	Nepříznivý průběh (Skupina B) n=14	Porovnání skupin A proti B (p=)
Léčba ACEi/sartanem	14 (100%)	9 (64%)	0.041*
Dávka ACEi/sartanu \geq 50% doporučené	6 (43%)	3 (21%)	0.420
Léčba betablokátozem	9 (64%)	10 (71%)	1.00
Dávka betablokátoru \geq 50% doporučené	4 (29%)	5 (36%)	1.00
Léčba digoxinem	2 (14%)	6 (43%)	0.209
Léčba furosemidem	7 (50%)	13 (93%)	0.033*
Denní dávka furosemidu (mg/day)	5 (0-75)	50 (40-65)	0.001 **
Léčba blokátorem mineralokortikoidních receptorů	6 (43%)	11 (79%)	0.120

Tabulka č. 3: Charakteristika skupin s příznivým průběhem (skupina A) a nepříznivým průběhem – úmrtí, potřeba urgentní OTS nebo implantace LVAD (skupina B).

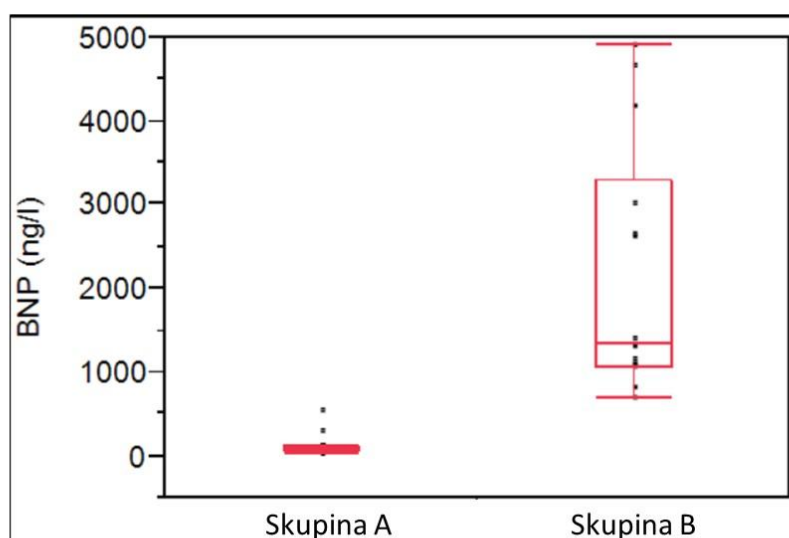
Pět nemocných (18%) podstoupilo urgentní transplantaci v rozmezí 4-14 měsíců a šesti nemocným (21%) byla implantovaná mechanická srdeční podpora (HeartMateII, Thoratec Corporation, Pleasanton, CA, USA) po 0-17 měsících jako most k transplantaci srdce. Zbývajících 14 nemocných mělo příznivý průběh (skupina A). 14 nemocných s nepříznivým průběhem bylo zařazeno do skupiny B. Tabulka 3 ukazuje demografická data a údaje o terapii u obou skupin.

Prediktory nepříznivého průběhu

Tabulka č. 3 ukazuje porovnání skupin A a B Studentovým a Mann-Whitneyovým testem. Nepříznivý průběh nemocných ve skupině B byl predikován následujícími známkami pokročilého CHSS:

- 1/ anamnézou dekompenzace CHSS v posledních 12 měsících
- 2/ vyšší NYHA třídou (New York Heart Association)
- 3/ vyšší srdeční frekvencí
- 4/ nižším systolickým krevním tlakem
- 5/ výrazně zvýšenou hladinou BNP (**graf č. 1**)

- 6/ vyšší plazmatickou hladinou kreatininu
- 7/ horší toleranci léčby ACE-inhibitorem, AT1 blokátorem a vyšší dávkou furosemidu
- 8/ pokročilejší fázi remodelace myokardu korelující s širším QRS komplexem v EKG, nižší EF SRV, vyšším výskytem významné regurgitace na systémové atrioventrikulární chlopni a nálezem systolické dysfunkce subpulmonální komory



Graf č. 1: Rozdíl v hladinách BNP při prvním vyšetření ve skupině A (příznivý průběh) a B (nepříznivý průběh). Data jsou zobrazena formou krabicového grafu.

Tabulka č. 4 ukazuje výsledky Coxovy regresní analýzy, která přinesla podobné informace o významu jednotlivých klinických a laboratorních ukazatelů prognózy jako předchozí analýza. Odpovídající poměr rizik s 95% intervalem spolehlivosti.

Významnost klinických prediktorů nepříznivé prognózy byla testována pomocí ROC analýzy (**tabulka č. 5**). Nejlepší plocha pod křivkou (AUC) (1.00) a Youdenův index (100%) byla nalezena pro BNP (optimálně oddělující hodnota 618 ng/l). Následovaly klinické parametry jako NYHA třída, anamnéza epizody

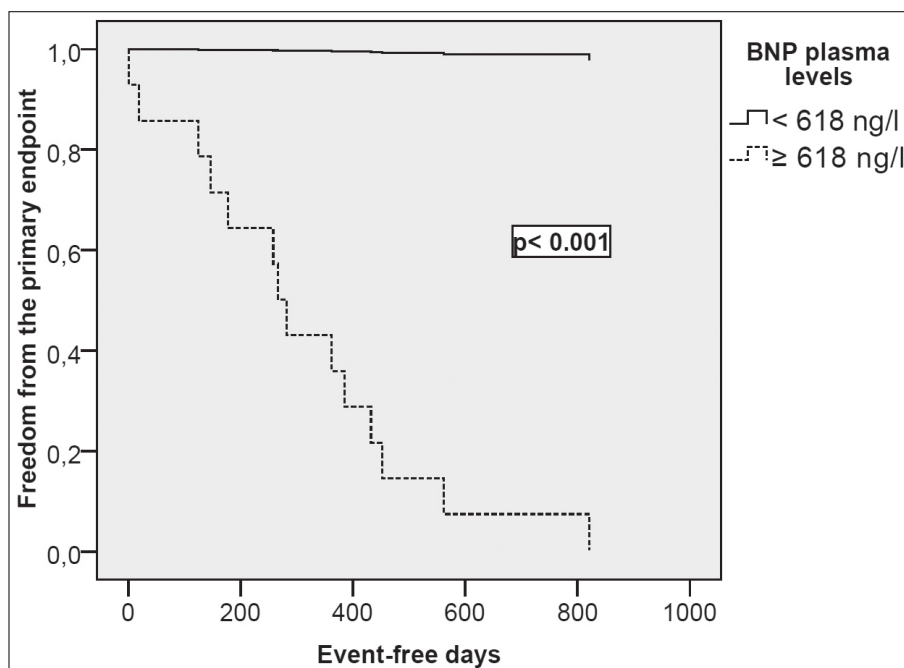
dekompenzace v předchozích 12 měsících a systolická dysfunkce subpulmonální komory. Ostatní parametry neměly optimální prediktivní kapacitu.

	Chi- kvadrát	Hazard ratio (95% confidence interval)	p=
Epizoda dekompenzace v posledních 12 měsících	25.20	162.20 (1.57-1649.70)	0.000 ***
Funkční třída NYHA (po stupních I-IV)	14.89	16.95 (4.030-71.350)	0.000 ***
Srdeční frekvence (po 10 tepech/min)	12.51	1.783 (1.284-2.476)	0.000 ***
Systolický krevní tlak (po 1 mm Hg)	3.92	0.950 (0.903-1.000)	0.048 *
Šíře QRS (po 10 ms)	12.07	1.403 (1.146-1.719)	0.001 **
Natrium v séru (po 1 mmol/l)	6.19	0.776 (0.634-0.949)	0.013 *
Kreatinin v séru (po 10 µmol/l)	29.34	1.347 (1.061-1.710)	0.000 ***
Glomerulární filtrace (po 10 ml/min)	2.68	0.871 (0.736-1.030)	0.101
B-natriuretický peptid (po 100 ng/l)	29.21	1.079 (1.042-1.117)	0.000 ***
Ejekční frakce SRV (po 1 procentním bodu)	8.58	0.844 (0.748-0.951)	0.003 **
Těžká regurgitace na systémové atrioventrikulární chlopni	7.20	4.98 (1.37-18.14)	0.007 **
Dysfunkce subpulmonální komory	32.74	2.76 (1.67-4.27)	0.000 ***
Léčba ACEi/sartanem	16.57	0.111 (0.031-0.395)	0.000 ***
Léčba furosemidem	5.51	7.862 (1.024-60.34)	0.008 **
Denní dávka furosemidu (per 10 mg/day)	32.62	1.258 (1.097-1.441)	0.000 ***

Tabulka č. 4: Výsledky univariální Coxovy regresní analýzy.

	AUC	Optimální cutpoint	Youdenův index
B- natriuretický peptid (ng/l)	1.00	618	100.0
Funkční třída NYHA	0.98	III	92.9
Epizoda dekompenzace v posledních 12 měsících	0.96	Ano	92.9
Systolická dysfunkce subpulmonální komory	0.96	Ano	92.9
Srdeční frekvence (pulzů/min)	0.83	68	47.2
Šíře QRS (ms)	0.81	139	62.6
Kreatinin v séru (μmol/l)	0.80	90	57.1
Významná trikuspidální regurgitace	0.74	Ano	47.8
Léčba furosemidem	0.69	Ano	39.1

Tabulka č. 5: Výsledky ROC analýzy.



Graf č. 2: Významný rozdíl v Kaplan – Meierových křivkách u nemocných s plazmatickými hladinami BNP nižšími a vyššími než medián.

Graf č. 2 ukazuje významný rozdíl v přežívání bez potřeby OTS nebo implantace LVAD podle mediánu plazmatické hladiny BNP (618ng/l).

2.2.7 Diskuse

Podle našich znalostí, je naše práce (Hegarova M. et al., 2016) dosud největší klinickou studií, která dokládá silný prognostický význam BNP v terminálním stadiu CHSS u nemocných se SRV.

Srovnání s předchozími studiemi

V kapitole 2.1.2 jsme popsali dostupné práce o významu monitorování hladin BNP u nemocných se SRV. Pouze dvě dostupné studie byly zaměřené prognosticky. Ve studii Larssona a spol. (Larsson D.A. et al., 2007) mělo pouze 21 ze 43 sledovaných jedinců se SRV systolickou dysfunkcí SRV (s ejekční frakcí $\leq 45\%$) a v průběhu sledování došlo pouze k jednomu úmrtí. Studie proto nemohla doložit prognostický význam natriuretických peptidů. Ve studii Stefanie Habbergerové a spoluautorů (Habberger S. et al., 2015) neměla většina zařazených nemocných (91%) pokročilé srdeční selhání, byly hodnoceny funkční třídou NYHA I a II, ve studii navíc nebyla popsána echokardiografická data.

Na rozdíl od výše uvedených prací bylo v našem souboru více než 50% pacientů ve funkční třídě NYHA III nebo IV a všichni měli těžkou systolickou dysfunkcí SRV (ejekční frakce $\leq 35\%$). V průběhu sledování dosáhlo závažné události 14 pacientů, kteří byli zařazeni do skupiny s nepříznivým průběhem. Jako primární závažnou událost jsme definovali úmrtí na progresi srdečního selhání ($n=3$), potřebu urgentní transplantace srdce ($n=5$) nebo implantaci mechanické srdeční podpory ($n=6$), tyto situace jsme považovali za ekvivalent terminálního srdečního selhání. Právě tato vysoká morbidita a mortalita souboru umožnila přes relativně malý počet jedinců daný raritní diagnózou a úzce specifikovaným souborem prognostické zhodnocení. Zbývajících 14 nemocných zůstalo v klinicky stabilní stavu, hodnotili jsme je jako skupinu s příznivým průběhem. Omezený počet událostí nedovolil použít multivariantní analýzu.

Nepříznivý průběh predikovaly známky pokročilého srdečního selhání: prodělaná epizoda dekompenzace v posledních 12 měsících, vyšší funkční třída dle NYHA-III a IV, vyšší srdeční frekvence, nižší systémový krevní tlak, výrazné zvýšení hladiny BNP, vyšší hladina kreatininu v séru, nižší tolerance inhibitorů angiotensin konvertujícího enzymu a blokátorů receptorů pro angiotensin, vyšší denní dávka furosemidu. Pokročilá remodelace myokardu u nemocných s

nepříznivou prognózou korelovala s šíří QRS komplexu, nižší ejekční frakcí SRV, větším výskytem významné regurgitace na systémové atrioventrikulární chlopni a přítomností dysfunkce subpulmonální komory. Prognostický význam těchto nálezů byl zpracován pomocí univariální Cox regresní analýzy. Klinicky relevantní prognostické markery byly porovnány pomocí ROC křivek. Nejlepší plocha AUC (area under the curve) = 1 s Youdenovým indexem 100% byla nalezena pro BNP. Jako hodnotu predikující nepříznivý průběh jsme našli 618ng/l. Jako další významné prediktory prognózy následovaly NYHA třída, prodělaná epizoda dekompenzace a systolická dysfunkce subpulmonální komory.

Klinický přínos studie

V současné době pokračujeme prospektivně ve sledování hladin BNP a ostatních prognostických ukazatelů u nemocných se systolickou dysfunkcí SRV, kteří jsou odesíláni na naše pracoviště s úvahou o zařazení do programu transplantace srdce. Nálezy z retrospektivní studie nás vedly k přehodnocení přístupu ke kandidátům OTS se SRV. Nemocné se SRV s vysokou hladinou BNP a dalšími nepříznivými prognostickými známkami zařazujeme na čekací listinu k transplantaci srdce v urgentním pořadí i v případě, že jejich klinický stav přechodně dovoluje ambulantní sledování, tedy nejsou závislí na parenterální terapii. Věříme, že tento postup představuje jedinou možnost, jak zvýšit pravděpodobnost, že se nemocný dožije vhodného dárce srdečního štěpu. Jsme vedeni snahou co nejvíce snížit potřebu implantace mechanické podpory ve fázi často rychle se rozvíjejícího terminálního srdečního selhání. Implantace LVAD je pro tyto nemocné legitimním život zachraňujícím výkonem, představuje však další kardiochirurgický výkon v terénu četných předchozích korekčních operací se všemi nepříznivými konsekvencemi.

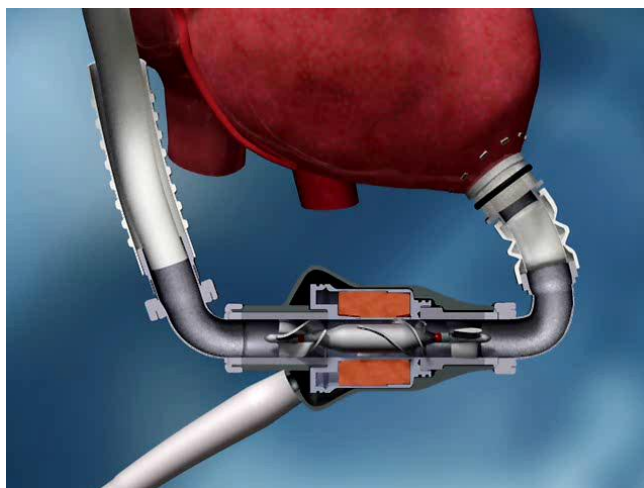
3. Význam monitorování BNP u nemocných s implantovanou levostrannou mechanickou podporou oběhu typu Heart Mate II v ambulantní péči

3.1 Úvod do problematiky

3.1.1 Implantabilní levostranná mechanická srdeční podpora v terapii terminálního srdečního selhání

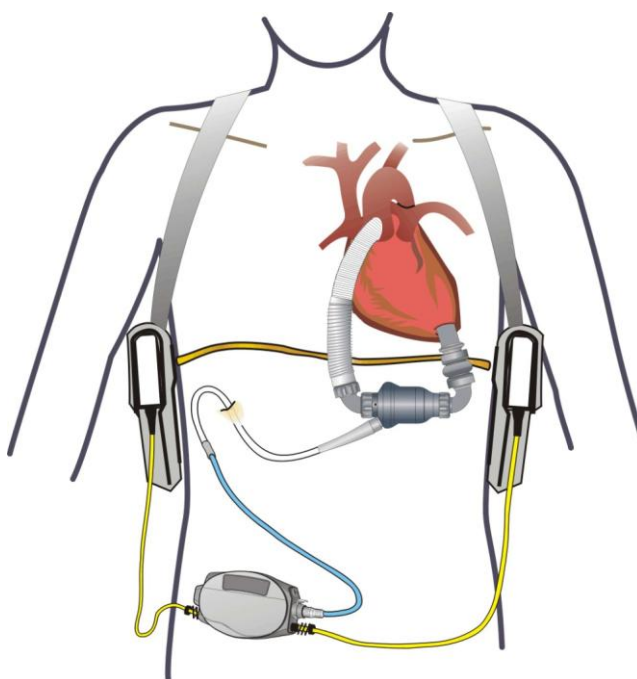
Implantace dlouhodobé levostranné mechanické srdeční podpory (LVAD) je v současnosti zavedenou život zachraňující metodou pro nemocné v terminální fázi chronického srdečního selhání (CHSS) (Kirklin J.K. *et al.*, 2015).

Dlouhodobá prognóza pacientů po implantaci závisí mimo jiné na časném rozpoznání a terapii život ohrožujících komplikací jako jsou tromboembolické komplikace včetně trombózy čerpadla, krvácení, selhání pravé komory srdeční, rozvoj regurgitace na aortální chlopni a infekční komplikace související s výstupem transkutánního kabelu (McIlvennan C.K. *et al.*, 2014). Na našem pracovišti jsou nemocným v terminální fázi srdečního selhání v indikaci „přemostění“ k OTS implantovány od roku 2007 levostranné mechanické srdeční podpory Heart Mate II firmy Thoratec (*obr. č. 10*).



Obrázek č. 10: Schématické znázornění LVAD typu HM II. Rotační turbína v těle čerpadla zajišťující kontinuální krevní tok, vtoková a výtoková kanyla, z těla čerpadla vystupující kabel, který vede energii a data.

Tato zařízení jsou čerpadla s pohyblivým vnitřním rotorem pohánějícím krev axiálním směrem, generují tak nejen kontinuální tok nahrazující normální srdeční výdej, ale i dostatečný kontinuální tlak bez potřeby chlopní. Protože nepotřebují kompresní komoru, jsou malá a plně implantabilní. Nemocní tak mohou pobývat doma a dojíždět do nemocnice k ambulantním kontrolám. Dosud však nebyl dořešen implantabilní zdroj energie. Čerpadlo je tak poháněno externím zdrojem a musí být spojeno s bateriemi a řídicí jednotkou transkutánním kabelem (**obr. č. 11**). Vyústění kabelu představuje potenciální vstup pro infekční agens. Infekce systému pak patří k závažným komplikacím.



Obrázek č. 11: Schématické znázornění implantabilní mechanické podpory oběhu typu HM II. Zapojení čerpadla, vtoková kanyla ústící z hrotu LK, výtoková napojena na ascendentní aortu, transkutánní kabel napojený na řídicí jednotku a bateriové zdroje energie.

Implantované čerpadlo podporuje nebo zcela nahrazuje pouze funkci levé srdeční komory, pravou komoru odlehčuje pouze nepřímou. I po implantaci podpory tak může nejčastěji v důsledku selhání pravé komory dojít k závažné oběhové dekompenzaci. Kromě maligních arytmí může být příčinou také nesprávné nastavení otáček čerpadla. Příliš vysoká frekvence vede k přílišnému „vysátí“ LK, přetlačení mezikomorového septa doleva, dilataci pravé komory a trikuspidální insuficienci. Nedostatečná frekvence otáček naopak vede k dilataci levé komory, zvětšení mitrální regurgitace a k projevům levostranné srdeční

insuficience. Nastavení otáček čerpadla se proto optimalizuje pod echokardiografickou kontrolou. Průtok pumpou je závislý nejen na otáčkách, které jsou nastaveny fixně, ale také na dynamických parametrech, které definují tlakový rozdíl před a za čerpadlem. Proto jsou také nemocní do jisté míry schopni při zátěži díky vazodilataci s poklesem afterloadu a zvýšením preloadu v důsledku vyššího žilního návratu zvýšit srdeční výdej. Na druhou stranu v důsledku vzestupu afterloadu například při arteriální hypertenzi dochází k významnému snížení výkonu čerpadla. Extrémní situací je pak překážka v toku krve způsobená nejčastěji trombózou systému. V těchto život ohrožujících stavech dochází obvykle postupně k projevům srdečního selhávání. Podezření na trombózu pumpy je pak indikací k provedení echokardiografického vyšetření s tzv. „ramp“ testem s postupným navyšováním otáček, kdy známky nedostatečného „unloadingu“ komory diagnózu potvrdí.

Při ambulantní péči o tyto nemocné je zásadní včasné odhalení a léčba závažných, často zpočátku klinicky relativně málo vyjádřených komplikací. Dosud není dostupných mnoho informací o významu monitorace BNP u těchto nemocných, interpretaci výsledků a přínosu při identifikaci klinicky závažných událostí.

3.1.2 Současné poznatky o významu BNP u nemocných s implantovanými mechanickými podporami.

Po implantaci LVAD dochází obecně k snížení tlakového a objemového přetížení a snížení plnicího tlaku LK s následným poklesem neurohumorální aktivace, regresí hypertrofie (*de Jonge N. et al., 2002*) a dilatace. Implantace LVAD vede k reverzní remodelaci LK (*Frazier O.H. Myers T.J., 1999*) na ultrastrukturální a mnohem vzácněji i makroskopické a klinické úrovni. Po implantaci LVAD dochází také k zlepšení ledvinových funkcí. Všechny tyto patofyziologické procesy mohou být příčinou poklesu hladin BNP v dlouhodobém průběhu po implantaci LVAD (*Sodian R. et al., 2001; Milting H. et al. 2008; Kemperman H. et al., 2004*). Navíc byl prokázán pokles mRNA BNP v myokardu, pokles mRNA clearanového receptoru NPR-C a pokles plazmatických hladin ANP i BNP po implantaci LVAD (*Bruggink A.H. et al., 2006; Wohlschlaeger J. et al., 2008*). Hladina BNP 60 dnů po implantaci LVAD 322pg/ml a více predikuje horší dlouhodobé přežívání (*Sato T. et al., 2015*).

Není však jasné, jak interpretovat dynamiku hladin BNP v dlouhodobém sledování nemocných na LVAD.

3.2 Vlastní příspěvek k problematice: Význam monitorování hladin BNP u nemocných s LVAD HM II

3.2.1 Hypotéza

Stanovili jsme si následující hypotézy:

1/ Zvýšení hladiny BNP v podmínkách ambulantního sledování nemocných s implantovanou LVAD typu HM II bude korelovat s klinickými událostmi a komplikacemi.

2/ Míra zvýšení hladiny BNP bude odrážet závažnost komplikace a dovolí identifikovat nemocné s život ohrožující komplikací.

3/ Monitorování BNP identifikuje nemocné s horší prognózou po implantaci LVAD.

Navíc jsme si stanovili za cíl posoudit význam interindividuální variability hladin BNP v korelaci s klinickými událostmi po implantaci LVAD.

3.2.2 Pacienti a metodika

Naše studie byla prospektivní. Studovali jsme skupinu konsektivních pacientů, kteří podstoupili v době od začátku února 2008 do konce listopadu 2015 v IKEM implantaci LVAD HM II (Thoratec Corporation, Pleasanton, CA, USA) v indikaci mostu k transplantaci srdce. Do studie jsme zařadili ty nemocné, kteří byli po implantaci propuštěni domů a dále byli sledováni v ambulanci srdečního selhání IKEM.

Definice souboru

Z celkového počtu 187 pacientů s implantovaným HM II systémem v daném období jsme vyřadili ze studie 29 nemocných (15%), kteří zemřeli v průběhu hospitalizace po implantaci mechanické podpory, dále jednoho nemocného, který zemřel krátce po propuštění na cévní mozkovou příhodu, 8 nemocných, kteří se v průběhu hospitalizace po implantaci HM II dočkali transplantace srdce. Vyřadili

jsme dále 10 pacientů, u nichž jsme neměli k dispozici hladinu BNP před implantací HM II, 2 nemocné, kteří měli hladinu BNP před implantací měřenu v podmínkách ledvinové nedostatečnosti s potřebou eliminační metody. Jednoho nemocného jsme vyřadili, protože nebyl propuštěn z první hospitalizace po implantaci v době ukončení sledování. Celkem tedy bylo do studie zařazeno 136 pacientů (73%). Charakteristiku souboru ukazují **tabulky č. 6 a 7**. Medián sledování byl 298 dnů (159-456).

Protokol studie

Hladiny BNP byly měřeny před implantací LVAD a po propuštění z nemocnice každé dva měsíce v rámci klinických kontrol, které byly plánovány každé 4 týdny. Při každé kontrole jsme sledovali a zaznamenávali data týkající se klinického stavu, krevní tlak měřený dopplerovou metodou na arteria brachialis, krevní obraz, základní biochemické nálezy, C-reaktivní protein (CRP) a dvanáctisvodový elektrokardiografický záznam (EKG). Posuzovali jsme klinické události a přítomnost komplikací. Události jsme zaznamenávali podle následující škály: 0 = žádná klinická událost, 1 = hypervolemie s potřebou zvýšení dávky perorálních diuretik, 2 = arteriální hypertenze se středním tlakem $\geq 110\text{mmHg}$, 3 = infekce bez potřeby hospitalizace, parenterálně podávaných antibiotik nebo chirurgického zákroku, 4 = závažná infekce s potřebou hospitalizace, parenterálně podávaných antibiotik a/nebo chirurgického zákroku, 5 = srdeční selhání bez dysfunkce čerpadla s potřebou hospitalizace a parenterální terapie, 6 = trombóza systému čerpadla s patologickým echokardiografickým a/nebo angiografickým nálezem. Pacienti byli rozděleni podle výše popsaných klinických událostí do následujících skupin: Skupina A se závažnou událostí vyžadující hospitalizaci (události 4-6), skupina B s méně závažnou klinickou událostí léčenou ambulantně (události 1-3) a skupina C zahrnující pacienty bez komplikací. Sledování jsme ukončili 1. června roku 2016.

Metodika

U všech pacientů jsme měli k dispozici hladiny BNP před implantací HM II (BNP před) a hladiny BNP při první ambulantní kontrole (BNP- 1). U 125 nemocných s kolísáním hladin BNP v průběhu sledování jsme identifikovali hladinu při klinické události nebo nejvyšší hodnotu u nemocných bez klinické události (BNP max). U pacientů s několika klinickými událostmi jsme hodnotili hladinu BNP při nejzávažnější z nich. Nejnížší naměřená hladina BNP v průběhu

před klinickou událostí byla označena jako „BNP min“. Pro posouzení vlivu interindividuální variability BNP jsme spočítali procentuální poměr „BNP max“ k „BNP před“, „BNP -1“ a „BNP min“. Tato analýza nebyla možná u malé skupiny 11 nemocných (8%), kteří měli v průběhu sledování po implantaci HM II trvale klesající hladiny BNP a jejich nejvyšší hladina BNP byla ta při první ambulantní kontrole. Jejich výsledky jsme sledovali samostatně.

Protože jsme chtěli posoudit vliv ledvinových funkcí na kolísání hladin BNP, vypočítali jsme u každého pacienta glomerulární filtraci (GF) v době hodnocených hladin BNP podle vzorce Cockrofta a Gaulta (*Cockcroft D.W., Gault M.H., 1976*). Použili jsme následující vzorec pro muže: $GF \text{ (ml/s)} = 140 - \text{věk [roky]} \times \text{váha [kg]} / 44,5 \times \text{hladina kreatininu v plazmě } [\mu\text{mol/l}]$ a vzorec pro ženy: $GF \text{ (ml/s)} = 0,85 \times (140 - \text{věk [roky]}) \times \text{váha [kg]} / 44,5 \times \text{hladina kreatininu v plazmě } [\mu\text{mol/l}]$.

U tří pacientů se známou svalovou dystrofií jsme GF odvodili z clearance cystatinu C, kterou jsme počítali ze stanovené hladiny cystatinu C podle následujícího vzorce: $GF \text{ (ml/s)} = 84,7 \times \text{plazmatická hladina cystatinu C [mg/l]}^{-1,68} / 60$.

3.3.3 Laboratorní metody

Vzorky krve pro měření plazmatických hladin BNP byly odebrány do zkumavek obsahujících kyselinu ethylendiamintetraoctovou (EDTA) (1mg/ml) a aprotinin (500 U/ml kallikrein inaktivátoru). Zkumavky byly neprodleně centrifugovány. Hladiny BNP byly měřeny chemiluminiscentní imunoesejí (Abbott Laboratories, Diagnostics Division, Abbott Park, USA Illinois, dodavatel: Abbott, Max-Planck-Ring 2, Wiesbaden, Germany). Spodní limit pro detekci byl 10 ng/l, koeficient variance v rámci eseje (CV) byl <3.8%, a koeficient variance mezi esejemi CV byl <5.3%. Pro stanovení hladiny kreatininu v séru byla použita enzymová analýza (Abbott Architect Creatinine, catalogue No. 8L24-31, Abbott Laboratories Inc., Abbott Park, IL, USA).

3.3.4 Statistická analýza

Nespojité proměnné byly popsány pomocí absolutních a relativních frekvencí. Porovnány byly pomocí chi-testu a Fisherova testu.

Kontinuální proměnné byly zhodnoceny pomocí Kolmogorova-Smirnovova testu, zda mají normální (gaussovské) nebo abnormální (negaussovské) rozložení.

Proměnné s normálním rozložením byly vyjádřeny jako průměr a směrodatná odchylka. Proměnné s abnormální (negaussovskou) distribucí byly prezentovány jako medián a interkvartilové rozmezí. Pro účely statistické analýzy jsme některé veličiny s negaussovským rozložením převedli do logaritmické podoby (BNP).

Srovnání kontinuálních proměnných s normální distribucí jsme provedli pomocí Studentova t testu pro nepárová data. Kontinuální proměnné s negaussovskou distribucí jsme porovnali pomocí neparametrického testu Mann-Whitney. Rozdíly mezi skupinami byly testovány pomocí ANOVA testu.

ROC analýza (receiver operating characteristic analysis) nám pomohla identifikovat prediktory klinických událostí a optimální hodnoty hodnocených veličin s nejvyšším Youdenovým indexem.

Zkonstruovali jsme Kaplan-Meierovy křivky k demonstraci vztahu vybraných veličin a času do výskytu klinických příhod.

Všechny testy jsme použili v oboustranné verzi, hodnotu statistické významnosti $p < 0,05$ jsme považovali za statisticky významnou.

Pro analýzy a tvorbu grafů jsme použili následující statistické programy: JMP12 (SAS, Buckinghamshire, UK) a SPSS (Chicago, Illinois, USA) pro Windows, verze 17.0.

3.3.5 Výsledky

Události v průběhu sledování

V průběhu sledování (medián 298 dnů [159-456]), zemřelo 8 pacientů (6%), 92 pacientů (67%) se dočkalo provedení transplantace srdce a pěti pacientům (4%) byla mechanická podpora odpojena pro zlepšení stavu. Zbýlých 31 nemocných (23%) v době ukončení sledování pokračovalo s mechanickou podporou oběhu. V **tabulce č. 8** jsou popsány klinické události ve studovaných skupinách a jejich četnost. Do skupiny A jsme zařadili 21 pacientů (15%), kteří prodělali závažnou komplikaci vyžadující hospitalizaci. Skupinu B vytvořilo 38 pacientů (28%) s méně závažnou klinickou událostí. Skupina C sestávala z 66 nemocných (49%), u nichž jsme nezaznamenali klinicky relevantní komplikaci. Výše zmíněná skupina D sestávala z 11 pacientů (8%) s příznivým klinickým průběhem bez zaznamenaných

komplikací, u nichž měly hladiny BNP trvale sestupný trend v průběhu celého sledování. Tuto skupinu jsme v analýze prediktivních hodnot proměnných před implantací a v době první ambulantní kontroly hodnotili společně se skupinou C. Roční přežívání hodnocené Kaplan-Meierovou analýzou bylo horší ve skupině A (78%) následované skupinou B a C (92% a 97%) (**graf č. 3**).

	Skupina A (n=21)	Skupina B (n=38)	Skupina C (n=66)	Skupina D (n=11)	Statistická významnost (p =)	
					A+B vs. C (+D)	A vs. B
muži/ženy	18 (85%) / 3 (15%)	33 (86%)/ 5 (14%)	59 (89%) / 7 (11%)	11 (100%)/ 0	0.643	1.000
Průměrný věk (roky)	49,6 (23-72)	52,6 (26-67)	47,2 (17-69)	53,5 (36-67)	0.141	0.584
Etiologie:						
KMP	10 (47.6%)	21 (55.3%)	36 (54.5%)	6 (54.5%)	0.467	0.151
ICHS	7 (33.3%)	16 (42.1%)	27 (40.9%)	4 (36.4%)		
Chlopenní vada	2 (9.5%)	1 (2.6%)	1 (1.5%)	0		
VVS	2 (9.5%)	0	2 (1.5%)	1 (9.1%)		
Doba sledování (dny)	267 (157-422)	356 (263-532)	298 (157-414)	96 (33-169)	0.029 *	0.096
BMI (kg/m²)	27,5 ± 4,2	26,8 ± 4,3	26,0 ± 3,9	24,0 ± 3,5	0.084	0.393
INTERMACS						
1	4 (19%)	6 (16%)	11 (17%)	2 (18%)	0.556	0.603
2	6 (29%)	10 (26%)	28 (42%)	6 (54%)		
3	8 (38%)	10 (26%)	16 (24%)	1 (9%)		
4	1 (5%)	7 (19%)	8 (12%)	2 (18%)		
5	2 (9%)	5 (13%)	3 (5%)	0		

Tabulka č. 6: Charakteristika a srovnání skupin s klinickými událostmi a skupiny bez události. Zkratky v tabulce: KMP = kardiomyopatie (dilatační + hypertrofická + restriktivní), ICHS = ischemická choroba srdeční, VVS = vrozená vada srdeční, BMI = Body mass index, AVR = náhrada aortální chlopně, MVP = plastika mitrální chlopně, TVP = plastika trikuspidální chlopně, RVAD = mechanická srdeční podpora pravé komory (Levitronix).

	Skupina A (n=21)	Skupina B (n=38)	Skupina C (n=66)	Skupina D (n=11)	Statistická významnost (p =)	
					A+B vs. C (+D)	A vs. B
Krátkodobá mechanická podpora před implantací	5 (24%)	9 (24%)	14 (21%)	0	0.358	1.000
Přidružený výkon:						
AVR	4 (19%)	2 (5%)	6 (9%)	0	0.304	0.173
MVP	0	1 (3%)	6 (9%)	0	0.228	1.000
TVP	6 (29%)	9 (24%)	18 (27%)	2 (18%)	0.901	0.759
RVAD	2 (9%)	6 (16%)	2 (3%)	0	0.079	0.699
Pobyt na RES (dny)	17 (7.5–27.0)	9 (6.0–21.5)	7 (5.0–20.0)	7 (4.0–13.0)	0.013 *	0.161
BNP před (ng/l)	1118.7 (771.0– 2532.5)	1762.1 (1284.8– 2155.5)	2253.0 (1501.8– 3466.0)	2558.0 (824 – 3083)	0.001 **	0.056
BNP 1 (ng/l)	411.0 (227.5– 651.0)	446.5 (278.3– 809.5)	292.5 (189.0– 498.8)	377.0 (201.0– 472.0)	0.001 **	0.542
BNP min (ng/l)	206,5 (132.5– 374.0)	217,0 (163.5– 300.8)	169,5 (111.3– 275.5)	-	0.067	0.987
BNP max (ng/l)	1220.7 (785.0– 1434.5)	506.0 (416.0– 823.8)	246.5 (163.0– 452.3)	-	0.000 ***	0.000 ***
% poměr BNP max/ BNP před	88 (44-113)	31 (23-54)	14 (5-23)	-	0.000 ***	0.000 ***
% poměr BNPmax /BNP 1	223 (201-414)	101 (100-149)	100 (68-114)	-	0.000 ***	0.000 ***
% poměr BNP max/BNP min	449 (314-904)	263 (191-335)	140 (125-172)	-	0.000 ***	0.000 ***
GF před iplant. (ml/s)	1.71 (1.37–2,07)	1.55 (1.19–1.54)	1.47 (1.13–1.82)	1.65 (1.21–1.58)	0.218	0.289
GF při BNP min (ml/s)	1.95 (1.35–2.40)	1.77 (1.35–2.21)	1.87 (1.43–2.37)	1.73 (1.38–2.24)	0.961	0.752
GF při BNP max (ml/s)	1.93 (1.37–2.15)	1,66 (1.39–2.18)	1.87 (1.42–2.27)	1.72 (1.41–2.16)	0.422	1.000

Tabulka č. 7: Srovnání skupin ve smyslu potřeby přidružených výkonů , hladin BNP a glomerulární filtrace.

BNP před = hladina BNP před implantací HM II, BNP 1 = hladina BNP při první ambulantní kontrole,

BNP min = nejnižší hladina BNP před událostí, BNP max = hladina BNP při události, GF = glomerulární filtrace, RES oddělení intenzivní pooperační péče.

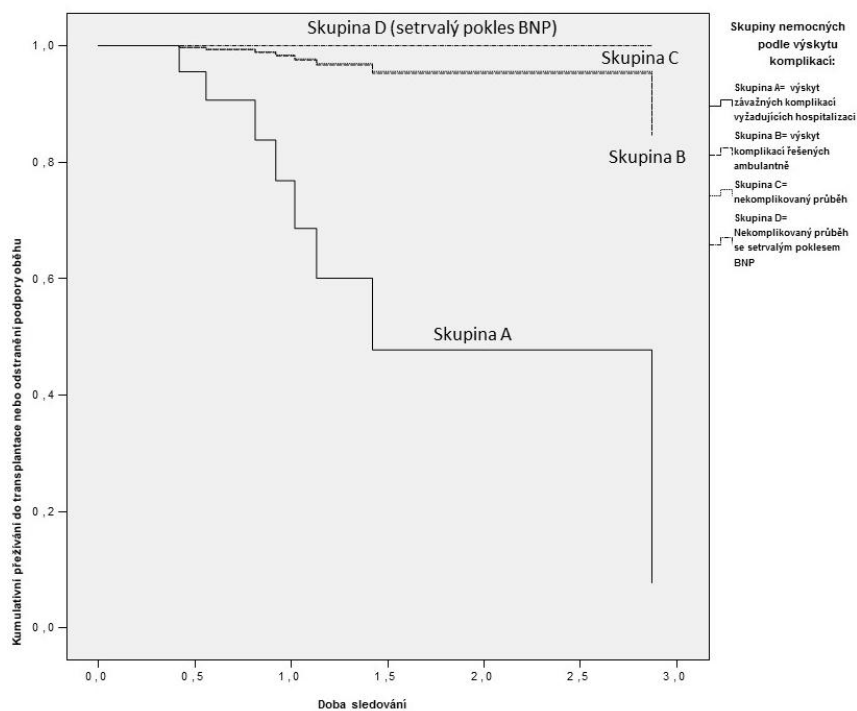
Výsledky monitorace BNP

Medián doby do první ambulantní kontroly nemocných byl 64 dnů (48-88) po implantaci HM II. Při první kontrole jsme pozorovali signifikantní pokles mediánu hladin BNP ve srovnání s předimplantačními: 1894 ng/l (1255-2917) vs. 342 ng/l (219-549), $p=0.000$. Zaznamenali jsme významný sestupný rozdíl mezi mediánem hodnoty „BNP max“ ve skupině C a mediánem „BNP max“ ve skupinách B s méně závažnou událostí a A se závažnou komplikací: 246 ng/l vs. 506 ng/l vs. 1221 ng/l, $p=0.000$ (**graf č. 4**). Jak je vidět v **tabulce č. 7** jedinci s proběhlou komplikací (skupiny A a B) déle setrvali po implantaci LVAD na oddělení akutní pooperační péče RES, měli vyšší hladiny BNP v době první ambulantní kontroly (BNP-1) a vyšší hladiny „BNP max“ než jedinci bez zaznamenané komplikace.

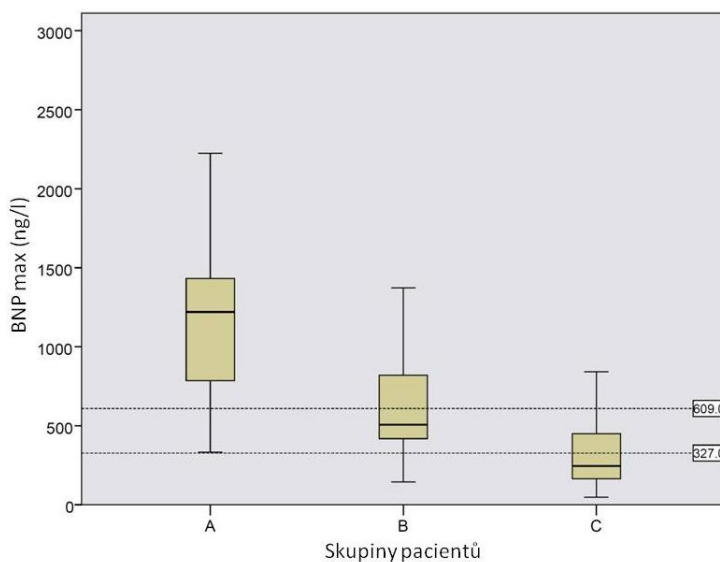
Identifikace klinických událostí pomocí BNP

Jak absolutní hodnoty „BNP max“, tak jejich procentuálně vyjádřený poměr k hladině BNP před implantací, v době první ambulantní kontroly a nejnižší hodnotě před klinickou událostí dokázaly oddělit nemocné s klinickou událostí (skupiny A a B) od skupiny C (**tabulka č. 9, graf č. 5**). Absolutní hodnota „BNP max“ i její procentuální vyjádření dokázalo identifikovat pacienty se závažnou komplikací (skupina A). Zajímavé bylo, že jako ukazatelé klinické události jako takové, měly absolutní hodnoty „BNP max“ i jejich procentuální vyjádření velmi podobné plochy pod křivkou (AUC). Navíc „BNP max“ AUC rostly vzestupně od identifikace infekční komplikace k diagnóze srdečního selhání až v největší míře v případě trombózy pumpy (**tabulka č. 9**).

U všech výše zmíněných klinických komplikací byly „BNP max“ signifikantně vyšší v porovnání s ostatními jedinci: v případě infekce [617 ng/l (414-1135) vs. 422 ng/l (207-780), $p=0.011$], u srdečního selhání [737 ng/l (479-1095) vs. 403 ng/l (191-753), $p=0.000$] a v případě trombózy čerpadla [1301 ng/l (1102-1830) vs. 429 ng/l (220-773), $p=0.000$].



Graf č. 3: Kaplan-Meierova analýza přežívání podle závažnosti komplikací. (Skupina A-pacienti se závažnou událostí, B-pacienti s méně závažnou komplikací, C-pacienti s nekomplikovaným průběhem, D-pacienti s trvale klesajícím trendem hladin BNP).



Graf č. 4: Porovnání plazmatických hladin BNP max u skupiny pacientů se závažnou komplikací (A), méně závažnou komplikací (B) a skupiny s nekomplikovaným průběhem (C). Data jsou zobrazena formou krabíkového grafu. Tečkované přímkové ukazují hodnoty optimálně oddělující skupiny A od B a C (609 ng/l) a skupiny A + B od C (327 ng/l).

Skupina A	Typ komplikace	Počet událostí (n=21)
Závažná infekce	Sepse Pneumonie Pyothorax Mediastinitida Kolitida způsobená Clostridium difficile Infekce v okolí pumpy Infikovaný dekubitus	2 (9%) 2 (9%) 1 (4.5%) 1 (4.5%) 1 (4.5%) 1 (4.5%) 1 (4.5%)
Srdeční selhání	Pravostranné srdeční selhání vyžadující hospitalizaci a parenterální léčbu Srdeční selhání vyžadující hospitalizaci a parenterální léčbu v důsledku maligní arytmie Srdeční selhání vyžadující hospitalizaci a parenterální léčbu v důsledku neuzívání farmakoterapie	3 (14%) 2 (9%) 1 (4.5%)
Trombóza čerpadla		6 (29%)
Skupina B		Počet událostí (n=38)
Jiné infekce	Akutní bronchitida Uroinfekce Infekce v okolí kabelu	8 (21%) 2 (5%) 2 (5%)
Dekompenzovaná arteriální hypertenze		10 (26%)
Srdeční selhání	Městnání ve velkém oběhu léčené ambulantně zvýšením dávky perorálního diuretika	16 (43%)

Tabulka č. 8: Detailní popis klinických událostí ve skupinách A a B.

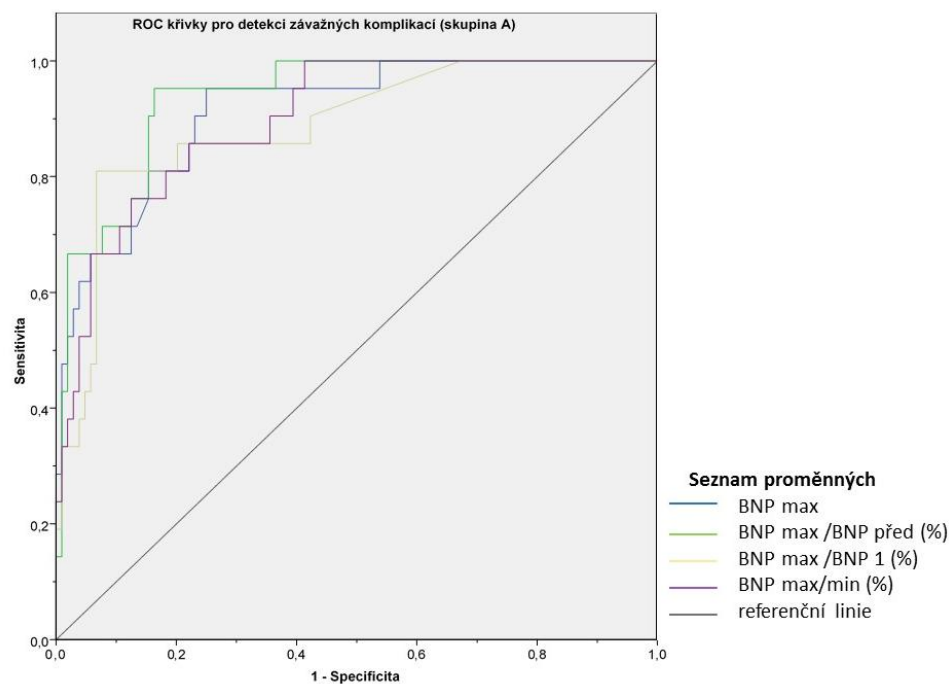
	Proměnné	Nejlépe oddělující hodnoty (sensitivita, specifita)	AUC (95% CI)	p=
Porovnání skupin A+B proti C	BNP max	≥ 327 ng/l (91%, 65%)	0.863 (0.801-0.925)	0.000 ***
	BNP max/BNP před (%)	≥ 18% (91%, 60%)	0.879 (0.820-0.938)	0.000 ***
	BNP max/BNP 1 (%)	≥ 97% (88%, 41%)	0.758 (0.673-0.842)	0.000 ***
	BNP max/BNP min (%)	≥ 173% (93%, 76%)	0.904 (0.851-0.956)	0.000 ***
Porovnání skupin A proti B+C	BNP max	≥ 609 ng/l (90%, 78%)	0.914 (0.853-0.976)	0.000 ***
	BNP max/BNP před (%)	≥ 39% (95%, 83%)	0.938 (0.892-0.984)	0.000 ***
	BNP max/BNP 1 (%)	≥ 123% (86%, 75%)	0.887 (0.807-0.966)	0.000 ***
	BNP max/BNP min (%)	≥ 206% (90%, 62%)	0.906 (0.842-0.969)	0.000 ***
Porovnání skupin A proti B	BNP max	≥ 781 ng/l (81%, 68%)	0.833 (0.721-0.944)	0.000 ***
	BNP max/BNP před (%)	≥ 40% (90%, 65%)	0.864 (0.769-0.958)	0.000 ***
	BNP max/BNP 1 (%)	≥ 128% (86%, 65%)	0.819 (0.705-0.932)	0.000 ***
	BNP max/BNP min (%)	≥ 297% (81%, 65%)	0.812 (0.690-0.944)	0.000 ***
Identifikace infekce (n=21)	BNP max	≥ 414 ng/l (76%, 50%)	0.681 (0.569-0.792)	0.009 **
	BNP max/BNP před (%)	≥ 22% (71%, 48%)	0.685 (0.565-0.805)	0.008 **
	BNP max/BNP 1 (%)		0.584 (0.458-0.710)	0.227
	BNP max/BNP min (%)	≥ 183% (90%, 56%)	0.728 (0.637-0.819)	0.001 **
Identifikace srdečního selhání (n=22)	BNP max	≥ 419 ng/l (86%, 53%)	0.753 (0.662-0.844)	0.000 ***
	BNP max/BNP před (%)	≥ 23% (91%, 57%)	0.758 (0.663-0.853)	0.000 ***
	BNP max/BNP 1 (%)	≥ 100% (73%, 56%)	0.707 (0.589-0.824)	0.002 **
	BNP max/BNP min (%)	≥ 208% (86%, 63%)	0.772 (0.684-0.860)	0.000 ***
Identifikace trombózy pumpy (n=6)	BNP max	≥ 783ng/l (100%, 77%)	0.927 (0.859-0.995)	0.000 ***
	BNP max/BNP před (%)	≥ 40% (100%, 75%)	0.920 (0.853-0.988)	0.001 **
	BNP max/BNP 1 (%)	≥ 190% (83%, 84%)	0.835 (0.664-0.999)	0.006 **
	BNP max/BNP min (%)	≥ 550% (83%, 94%)	0.901 (0.820-0.998)	0.001 **

Tabulka č. 9: Výsledky ROC analýzy s vybranými hodnotami optimálně odělujícími

skupiny s klinickými událostmi. Zkratky: BNP před = hladina BNP před implantací HM II, BNP 1

= hladina BNP při první ambulantní kontrole, BNP min = nejnižší hladina BNP před událostí, BNP max =

hladina BNP při události, GF = glomerulární filtrace.



Graf č. 5: ROC křivky pro detekci závažných komplikací.

3.3.6 Diskuse

Zvýšené hladiny BNP odrážejí nejen větší vyplavování NP kardiomyocyty v reakci na zátěž, jak je popsáno v úvodní kapitole. Příčinou zvýšení může být poškození ledvinových funkcí a také další stavy nesouvisející přímo s CHSS jako je sepse, nebo zánělivé poškození myokardu (Tsai S.H. *et al.*, 2000). Všechny tyto mechanismy mohou mít souvislost s patofyziologií změn hladin BNP u nemocných s implantovanou mechanickou srdeční podporou.

Přestože máme mnoho dat o přínosu BNP a NT-proBNP v diagnostice a prognostické stratifikaci nemocných s CHSS, překvapivě informace o významu a přínosu monitorování hladin NP u nemocných s implantovanou LVAD jsou velmi sporé.

Podle našich poznatků je naše studie první publikovanou analýzou průběžné monitorace BNP u nemocných po implantaci LVAD s kontinuálním průtokem v ambulantní péči, kde byly hladiny BNP vztaženy ke klinickým událostem.

Hlavní nálezy jsou následující:

1/ Hladina BNP dokáže oddělit nemocné s probíhající klinickou událostí od jedinců bez komplikace.

2/ Významnost monitorace BNP ve vztahu k detekci klinické události stoupá od diagnostiky infekčních komplikací k identifikaci srdečního selhání až k nejvyšší míře při odhalení trombózy pumpy.

3/ Hodnocení absolutních hodnot udávajících hladinu BNP je v identifikaci klinických událostí stejně přínosné jako hodnocení změn hladin vztažených k hladině před implantací nebo k nejnižší předchozí hladině. V klinické praxi lze proto pominout interindividuální variabilitu a hodnotit aktuální nález.

Porovnání s dosavadními studiemi

Výsledky několika dosud publikovaných studií potvrdily navození známek reverzní remodelace myokardu, snížení exprese m-RNA pro BNP a NPR-C a snížení plazmatických hladin BNP u jedinců s implantovanou levostrannou mechanickou podporou oběhu. Dosud však nemáme prakticky žádnou evidenci o významu monitorování plazmatických hladin BNP po implantaci LVAD. Doposud byla publikována pouze jedna srovnávací studie (*Sato T. et al., 2015*). Sato a spolupracovníci sledovali skupinu 83 pacientů s převážně pulsatilní levostrannou podporou. Mortalita ve skupině byla 17%. Autoři identifikovali hladinu BNP 60 dnů po implantaci jako nezávislý prediktor celkové mortality s hodnotou nejlépe oddělující skupiny 322 ng/l. Podobnou analýzu v naší studii neumožnila nižší mortalita v souboru (8 úmrtí, 6%). Na druhou stranu detailně doložená korelace monitorace BNP s klinickými událostmi v naší studii odhalila silnou vazbu aktuální hladiny BNP s probíhající klinickou komplikací. Podařilo se nám definovat nejlépe oddělující hodnoty hladin BNP pro jakoukoliv klinickou událost (327 ng/l), závažnou komplikaci (609 ng/l), závažnou infekci nebo srdeční selhání (414 resp. 419 ng/l), a zejména nejzávažnější komplikaci – trombózu (783 ng/l).

BNP a Trombóza čerpadla

V případě trombózy čerpadla je vzestup hladiny BNP nejspíše způsoben vzestupem plnicího tlaku LK a/nebo dilatací LK, která vede k zvýšení napětí stěny. Tuto závažnou komplikaci často není snadné odhalit, na druhou stranu pouze časná diagnóza a rychlé řešení stavu výměnou pumpy nebo transplantací srdce při

dostupnosti vhodného dárce přináší nemocným zlepšení přežívání (*Mehra M.R. et al., 2014*). Současná diagnostická schemata zahrnují jiné prediktory než BNP, zejména nově vzniklé symptomy srdečního selhání, známky hemolýzy, zvýšené ukazatele práce čerpadla (*Goldstein D.J. et al., 2013*) nebo patologický výsledek „ramp“ testu (*Uriel N. et al., 2012; 2014*). V našem souboru jsme prokázali dysfunkci čerpadla v souvislosti s výrazným zvýšením hladiny BNP u 6 nemocných, v 5 případech byla trombóza potvrzena i makroskopicky při ohledání explantované pumpy. V jednom případě byl průkaz dysfunkce echokardiografický pomocí „ramp“ testu s klinickou manifestací rozsáhlé embolizační CMP. V celém souboru došlo k prokázané trombóze čerpadla s potřebou výměny systému ještě v jednom případě. I u tohoto nemocného došlo k výrazné elevaci hladiny BNP. Jako „BNP max“ jsme však byli nuceni zaznamenat hladinu ještě vyšší, která souvisela s následnou těžkou klostridiovou enterokolitidou. K žádnému jinému případu prokázané dysfunkce čerpadla v našem souboru nedošlo. Naše nálezy ukazují, že BNP rozhodně patří do diagnostických schemat k odhalení trombózy čerpadla.

BNP a projevy kardiální dekompenzace

Mechanismus vzestupu hladin BNP v případě městnání ve velkém oběhu je zřejmý. Zvýšené mechanické napětí myokardu při hypervolemii a neurohumorální aktivace jsou hlavními iniciátory vzestupu hladin natriuretických peptidů. Monitorace BNP může u pacientů s LVAD pomoci zejména v případech subklinické hypervolemie. Úprava dávky diuretika a kontrola nastavení otáček čerpadla ve vztahu k funkci pravé komory pak vede k rychlé úpravě stavu.

Závažné případy kardiální dekompenzace bez průkazu dysfunkce čerpadla byly ve dvou případech selhání pravé komory 2,5 a 5 měsíců po implantaci, dále selhání subpulmonální komory u pacienta se základní diagnózou D-TGA po ASO 16 měsíců po implantaci LVAD, tento pacient v důsledku oběhového selhání zemřel. Jeden případ oboustranného srdečního selhání jsme zaznamenali u nespolupracujícího pacienta, který vysadil všechnu antihypertenzní medikaci 13 měsíců po implantaci. Dva případy srdečního selhání měly arytmiickou příčinu 2 a 7 měsíců po implantaci LVAD.

BNP a arteriální hypertenze

Pacienti s LVAD mají snížené pulzace centrálních tepen s následnou sníženou aktivitou baroreflexu. Výsledná zvýšená centrální sympatická aktivita se tak může negativně projevit vzestupem krevního tlaku. Arteriální hypertenze pak mechanismem vzestupu afterloadu významně sníží výkon čerpadla, což se následně může projevit vzestupem hladiny BNP. Předpokládáme, že k vzestupu hladiny BNP dochází hlavně u pacientů, kteří nemají dobře kontrolovaný krevní tlak dlouhodobě. Vzhledem k tomu, že arteriální hypertenze představuje u nemocných s LVAD významný rizikový faktor cévní mozkové příhody, je zásadní identifikovat dlouhodobě nedostatečně léčené pacienty. Monitorace středního tlaku je v domácích podmínkách obtížná, dynamika BNP tak může být užitečným indikátorem dlouhodobě zvýšeného afterloadu v důsledku arteriální hypertenze. U všech nemocných, kde jsme našli hypertenzi jako klinický korelát k „BNP max” vedla úprava medikace k poklesu následné hladiny BNP.

BNP a infekce

Infekční komplikace ovlivňují negativně dlouhodobé přežívání nemocných na LVAD (*Holman W.L. et al., 2010*). Přesný mechanismus mírného vzestupu hladiny BNP u nemocných, kteří měli nezávažnou infekci nám není jasný. Na jednu stranu se může jednat o projev oběhové dekompenzace v důsledku infektu, na druhou stranu může jít o náhodnou koexistenci nálezů. Druhou alternativu podporuje fakt, že ne u všech pacientů na LVAD s nezávažnou infekcí dojde k vzestupu BNP. Naštěstí máme k dispozici další klinické a laboratorní markery infektu.

Zajímavým nálezem byl výrazný vzestup hladin BNP u klinicky závažných život ohrožujících infekcí. Přesto, že nalezené hladiny BNP byly velmi vysoké, pacienti s těmito událostmi neměli známky kardiální dekompenzace ani jsme u nich neprokázali poruchu funkce čerpadla. Navíc po zvládnutí infektu hladina BNP poklesla. Předpokládáme, že k vzestupu hladin BNP k hodnotám srovnatelným s hodnotami při terminálním srdečním selhání a při dysfunkci čerpadla dochází v případech život ohrožující infekce důsledku excesivní aktivace cytokinů. K vzestupu BNP pak může u závažné infekce docházet v důsledku zhoršení kontraktility LK a zvýšení plnicího tlaku LK následkem negativně inotropního působení vyplavených cytokinů. Existují navíc doklady o schopnosti imunokompetentních buněk infiltrujících myokard produkovat BNP. T-lymfocyty (CD-3), zdroj

metaloproteináz a cytokinů v poškozeném myokardu, mohou syntetizovat BNP (*Li Y.Y. et al., 2001*) a kromě T-lymfocytů mohou být zdrojem BNP také makrofágy (CD-68) (*Bruggink A.H. et al., 2006*).

Výrazný vzestup BNP může upozornit na závažný infekční zánět zejména v případech, kdy ostatní markery zánětu selhávají. Na druhou stranu je při velmi výrazném vzestupu hladiny BNP i při klinicky zjevném závažném infektu opodstatněné vyloučit zároveň dysfunkci čerpadla.

4. Závěr

V případě obou studií se nám podařilo potvrdit stanovené hypotézy.

U pacientů s VVS se SRV s těžkou systolickou dysfunkcí systémové komory je vstupní hodnota BNP silným prediktorem prognózy. V klinické praxi je potřeba výsledek BNP interpretovat v kontextu dalších prognostických markerů. Nicméně nález výrazně zvýšené hladiny BNP ($\geq 618 \text{ ng/l}$) sám o sobě ukazuje na vysoké riziko časného úmrtí nemocného. Praktickým dopadem tohoto nálezu bylo přehodnocení přístupu ke kandidátům OTS se SRV. Nemocné s vysokými hladinami BNP zařazujeme na čekací listinu kandidátů OTS v urgentním pořadí. Tento postup odráží specifický průběh pokročilého srdečního selhání u těchto nemocných s velkým rizikem rychlé progresy do terminálního stavu.

Nejvýznamnějším nálezem ve studii s ambulantními nemocnými s implantovanou mechanickou srdeční podporou HM II byla schopnost aktuální hladiny BNP odhalit závažnou život ohrožující komplikaci a to v nejvyšší míře trombózu systému čerpadla. Důležitým výstupem analýzy je navíc skutečnost, že v klinické praxi lze abstrahovat od interindividuální variability hladin BNP a řídit se pouze absolutní nalezenou hodnotou. Jsme přesvědčeni, že každý nález vysoké hladiny BNP u nemocného s implantovanou LVAD HM II má vyvolat podezření na závažnou klinickou komplikaci a motivovat k provedení dalších vyšetření zaměřených především na diagnostiku případné poruchy funkce čerpadla.

5. Literatura

Abbey SE, Potter LR. Vasopressin-dependent inhibition of the C-type natriuretic peptide receptor, NPR-B/GC-B, requires elevated intracellular calcium concentrations. *J Biol Chem* **2002**; 277: 42423–42430.

Akimoto K, Miyata A, Kangawa K et al. Molecular forms of atrial natriuretic peptide in the atrium of patients with cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* **1988**;67: 93–97.

Anand IS, Kalra GS, Ferrari R et al. Hemodynamic, hormonal, and renal effects of atrial natriuretic peptide in untreated congestive cardiac failure. *Am Heart J* **1989**;118:500–505.

Ashrafian H, Frenneaux MP, Opie LH. Metabolic mechanism in heart failure. *Circulation* **2007**; 116:434–448.

Awazu M, Kon V, Harris RC et al. Renal sympathetic nerves modulate glomerular ANP receptors and filtration. *Am J Physiol* **1991**;261:F29–F35.

Barr C, Rhodes P, Struthers A. C-type natriuretic peptide. *Peptides* **1996**;1:1243–1251.

Beltowski J, Wojcicka G. Regulation of renal tubular sodium transport by cardiac natriuretic peptides: two decades of research. *Med Sci Monit* **2002**; 8:RA39–RA52.

Berger R, Huelsman M, Strecker K et al. B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation* **2002**;105:2392–2397.

Bergler-Klein J, Pacher R, Berger R et al. Neurohormonal and hemodynamic effects of the selective endothelin antagonist darusentan in advanced chronic heart failure. *J Heart Lung Transplant* **2004**;23:20–27.

Besik J, Szarszoi O, Hegarova M et al. Non-Fontan adult congenital heart disease transplantation survival is equivalent to acquired heart disease transplantation survival. *Ann Thorac Surg.* **2016** May;101(5):1768–73.

Bettencourt P, Frioies F, Azevedo A et al. Prognostic information provided by serial measurement of brain natriuretic peptide in heart failure. *Int J Cardiol* **2004**;93:45–48.

Bock JS, Gottlieb SS. Cardiorenal syndrome: new perspectives. *Circulation* **2010**;11:2592–2600.

de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT et al. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* **1981**; 28:89–94.

de Bold AJ, Bruneau BG, Kuroski de Bold ML. Mechanical and neuroendocrine regulation of the endocrine heart. *Cardiovasc Res* **1996**; 31:7–18.

Bosshart H, Humphrey J, Deignan E et al. The cytoplasmic domain mediates localization of furin to the *trans*-Golgi Network en route to the endosomal lysosomal system. *J Cell Biol* **1994**;126:1157 – 1172.

Bruggink AH, de Jonge N, van Oosterhout MFM et al. Brain natriuretic peptide is produced both by cardiomyocytes and cells infiltrating the heart in patients with severe heart failure supported by a left ventricular assist device. *J Heart Lung Transplant* **2006**;25:174–80.

Bruneau BG, Piazza LA, de Bold AJ. BNP gene expression is specifically modulated by stretch and ET-1 in a new model of isolated rat atria. *Am J Physiol* **1997**;273: H2678 – H686.

Bubikat A, DeWindt LJ, Zetsche B et al. Local atrial natriuretic peptide signaling prevents hypertensive cardiac hypertrophy in endothelial nitric-oxide synthase-deficient mice. *J Biol Chem* **2005**; 280:21594–21599.

Buckley MG, Markandu ND, Sagnella GA, MacGregor GA. Brain and atrial natriuretic peptides: a dual peptide system of potential importance in sodium balance and blood pressure regulation in patients with essential hypertension. *J Hypertens* **1994**;12:809–813.

Burnett JC Jr., Kao PC, Hu DC et al. Atrial natriuretic peptide elevation in congestive heart failure in the human. *Science* **1986**;231:1145–7.

Cameron VA, Aitken GD, Ellmers LJ et al. The sites of gene expression of atrial, brain, and c-type natriuretic peptide in mouse fetal development: temporal changes in embryos and placenta. *Endocrinology* **1996**;137:817–824.

Cameron VA, Ellmers LJ. Minireview: Natriuretic peptides during development of the fetal heart and circulation. *Endocrinology* **2003**;144(6):2191–2194.

Chabrier PE, Roubert P, Lonchampt MO et al. Regulation of atrial natriuretic factor receptors by angiotensin II in rat vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* **1988**;263: 13199–202.

Chang MS, Lowe DG, Lewis M et al. Differential activation by atrial and brain natriuretic peptides of two different receptor guanylate cyclases. *Nature* **1989**;341: 68–72.

Charloux A, Piquard F, Doutreleau S et al. Mechanisms of renal hyporesponsiveness to ANP in heart failure. *Eur J Clin Invest* **2003**;33:769–778.

Chartier L, Schiffrin E, Thibault G, Garcia R. Atrial natriuretic factor inhibits the stimulation of aldosterone secretion by angiotensin II, ACTH and potassium in vitro and angiotensin II-induced steroidogenesis in vivo. *Endocrinology* **1984**;115, 2026–2028.

Chow PC, Cheung EW, Chong CY et al. Brain natriuretic peptide as a biomarker of systemic right ventricular function in patients with transposition of great arteries after atrial switch operation. *Int J Cardiol* **2008**; 127(2):192-7.

Chung ES, Packer M, Lo K H et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Pilot Trial of Infliximab, a Chimeric Monoclonal Antibody to Tumor Necrosis Factor-[alpha], in Patients With Moderate-to-Severe Heart Failure: Results of the Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart failure (ATTACH) Trial. *Circulation* **2003**;107: 3133-3140.

Clavell AL, Stingo AJ, Wei CM et al. C-type natriuretic peptide: a selective cardiovascular peptide. *Am J Physiol* **1993**;264:R 290–5.

Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* **1976**; 16:31-41.

Cody RJ, Atlas SA, Laragh JH et al. Atrial natriuretic factor in normal subjects and heart failure patients. Plasma levels and renal, hormonal, and hemodynamic responses to peptide infusion. *J Clin Invest* **1986**;78:1362–1374.

Colucci WS, Elskayman U, Horton DP et al. Intravenous nesiritide, a natriuretic peptide, in the treatment of decompensated congestive heart failure. *N Engl J Med*. **2000**;343:246-53.

Cuypers JAAE, Eindhoven JA, Slager MA et al. The natural and unnatural history of the Mustard procedure: long-term outcome up to 40 years. *Eur Heart J* **2014**; 35(25):1666-74.

Curry FRE. Atrial natriuretic peptide: an essential physiological regulator of transvascular fluid, protein transport, and plasma volume. *J Clin Invest* **2005**; 115:1458–1461.

Davidson NC, Coutie WJ, Struthers AD. N-terminal proatrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide are stable for up to 6 hours in whole blood in vitro. *Circulation* **1995**; 91:1276–1277.

Davies RR, Russo MJ, Yan J et al. Listing and transplanting adults with congenital heart disease. *Circulation* **2011**;123:759-67.

de Jonge N, van Wichen DF, Schipper ME et al. Left ventricular assist device in end-stage heart failure: persistence of structural myocyte damage after unloading. An immunohistochemical analysis of the contractile myofilaments. *J Am Coll Cardiol* **2002**;39:963–9.

Dickey DM, Potter LR. Human B-type natriuretic peptide is not degraded by meprin A. *Biochem Pharmacol* **2010**; 80:1007–1011.

Dickey DM, Potter LR. ProBNP(1–108) is resistant to degradation and activates guanylyl cyclase-A with reduced potency. *Clin Chem* **2011**; 57:1272–1278.

Diller GP. Chasing a moving target: outcome and risk stratification in patients with transposition of the great arteries after atrial switch operation. *Eur Heart J* **2014**; 35: 1637–1641.

Dirkx E, da Costa Martins PA, De Windt LJ. Regulation of fetal gene expression in heart failure. *Biochimica et Biophysica Acta* **2013**; 1832:2414-2424.

Dore A, Houde C, Chan KL et al. Angiotensin receptor blockade and exercise capacity in adults with systemic right ventricles: a multicenter, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Circulation* **2005**;112:2411–2416.

Dorn GW. Apoptotic and non-apoptotic programmed cardiomyocyte death in ventricular remodelling. *Cardiovascular Research* **2009**;81:465-473.

Dos L, Pujadas S, Estruch M et al. Eplerenone in systemic right ventricle: Double blind randomized clinical trial. The evedes study. *Int J Cardiol* **2013**; 168: 5167–5173.

dos Santos L, Salles TA, Arruda-Junior DF et al. Circulating dipeptidyl peptidase IV activity correlates with cardiac dysfunction in human and experimental heart failure. *Circ Heart Fail* **2013**;6:1029–1038.

Doughan AR, McConnell ME, Book WM. Effect of beta blockers (carvedilol or metoprolol XL) in patients with transposition of great arteries and dysfunction of the systemic right ventricle. *Am J Cardiol* **2007**;99:704–706.

Edwards BS, Zimmerman RS, Schwab TR et al. Atrial stretch, not pressure, is the principal determinant controlling the acute release of atrial natriuretic factor *Circ Res* **1988**;62:191–5.

Eindhoven JA, van den Bosch AE, Ruys TP et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and its relationship with cardiac function in adults with congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* **2013**;62(13):1203–12.

Eiskjaer H, Bagger JP, Danielsen H et al. Attenuated renal excretory response to atrial natriuretic peptide in congestive heart failure in man. *Int J Cardiol* **1991**;33 :61 –74.

Ellmers L, Knowles J, Kim HS et al. Ventricular expression of atrial and brain natriuretic peptide in Npr1 deficient mice with cardiac hypertrophy and fibrosis. *Am J Physiol* **2002**; 283: H707 - H714.

Feng QP, Hedner T, Hedner J, Pettersson A. Blunted renal response to atrial natriuretic peptide in congestive heart failure rats is reversed by the alpha 2-adrenergic agonist clonidine. *J Cardiovasc Pharmacol* **1990**;16:776–782.

Fenrick R, McNicoll N, DeLéan A. Glycosylation is critical for natriuretic peptide receptor-B function. *Mol Cell Biochem* **1996**;165:103–109.

Fiedler B, Lohmann SM, Smolenski A et al. Inhibition of calcineurin-NFAT hypertrophy signaling by cGMP-dependent protein kinase type I in cardiac myocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**; 99(17) 11363–11368.

Fielitz J, Dendorfer A, Pregla R et al. Neutral endopeptidase is activated in cardiomyocytes in human aortic valve stenosis and heart failure. *Circulation* **2002**;105:286–289.

Focaccio V, Volpe M, Ambrosio G et al. Angiotensin II directly stimulates release of atrial natriuretic factor in isolated rabbit hearts. *Circulation* **1993**;87:192–198.

Forfia PR, Lee M, Tunin RS et al. Acute phosphodiesterase 5 inhibition mimics hemodynamic effects of B-type natriuretic peptide and potentiates B-type natriuretic peptide effects in failing but not normal canine heart. *J Am Coll Cardiol* **2007**;49:1079–1088.

Forssmann WG, Richter R, Meyer M. The endocrine heart and natriuretic peptides: histochemistry, cell biology, and functional aspects of the renal urodilatin system. *Histochem Cell Biol* **1998**;110:335–357.

Fortin Y, De Léan A. Role of cyclic GMP and calcineurin in homologous and heterologous desensitization of natriuretic peptide receptor-A. *Can J Physiol Pharmacol* **2006**;84:539–546.

Frangogiannis NG. Matricellular proteins in cardiac adaptation and disease. *Physiol Rev* **2012**; 92: 635–688.

Frazier OH, Myers TJ. Left ventricular assist system as a bridge to myocardial recovery. *Ann Thorac Surg* **1999**;68:734–41.

Fujisaki H, Ito H, Hirata Y et al. Natriuretic peptides inhibit angiotensin II-induced proliferation of rat cardiac fibroblasts by blocking endothelin 1 gene expression. *J clin Invest* **1995**;96:1059–1065.

Furuya M, Yoshida M, Hayashi A et al. C-type natriuretic peptide is a growth inhibitor of rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* **1991**;177:927–31.

Fujita S, Shimojo N, Terasaki F et al. Atrial natriuretic peptide exerts protective action against angiotensin II-induced cardiac remodeling by attenuating inflammation via endothelin-1/endothelin receptor A cascade. *Heart Vessels* **2013**;28: 646–657.

Gardner DG, Hedges B, Wu J et al. Expression of the atrial natriuretic peptide gene in human fetal heart. *J Clin Endocrinol Metab* **1989**; 69:729–737.

Gardner DG, Chen S, Glenn DJ, Grigsby CL. Molecular biology of the natriuretic peptide system: implications for physiology and hypertension. *Hypertension* **2007**; 49:419–426.

Goldberg SW, Fisher SA, Wehman B, Mehra MR. Adults with congenital heart disease and heart transplantation: Optimizing outcomes. *J Heart Lung Transplant* **2014**;33:873–877.

Goldstein DJ, John R, Salerno C et al. Algorithm for the diagnosis and management of suspected pump thrombus. *J Heart Lung Transplant* **2013**;32:667–670.

Gomez N, Touihri K, Matheeußen V et al. Dipetidyl peptidase IV inhibition improves cardiorenal function in overpacing-induced heart failure. *Eur J Heart Fail* 2012;14:14–21.

Gopi V, Parthasarathy A, Umadevi S et al. Angiotensin-II down-regulates cardiac natriuretic peptide receptor-A mediated anti-hypertrophic signaling in experimental rat hearts. *Indian J Exp Biol* **2013**;51, 48–55.

Gwathmey TM, Westwood BM, Pirro NT et al. Nuclear angiotensin-(1–7) receptor is functionally coupled to the formation of nitric oxide. *Am J Physiol Renal Physiol* **2010**;299:F983–F990.

Haberger S, Hauser M, Braun SL et al. Prognostic value of plasma B-type natriuretic peptide in the long-term follow-up of patients with transposition of the great arteries with morphologic right systemic ventricle after atrial switch operation. *Circ J* **2015**;79:2677–81.

Hagiwara H, Sakaguchi H, Lodhi KM et al. Subtype switching of natriuretic peptide receptors in rat chondrocytes during in vitro culture. *J Biochem* **1994**;116: 606–609.

Hamad AM, Clayton A, Islam B, Knox AJ. Guanylyl cyclases, nitric oxide, natriuretic peptides, and airway smooth muscle function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **2003**;285: L973–L983.

Haneda M, Kikkawa R, Maeda S et al. Dual mechanism of angiotensin II inhibits ANP-induced mesangial cGMP accumulation. *Kidney Int* **1991**;40:188–194.

Harris PJ, Thomas D, Morgan TO. Atrial natriuretic peptide inhibits angiotensin-stimulated proximal tubular sodium and water reabsorption. *Nature* **1987**;326:697–698.

Hechter SJ, Fredriksen PM, Liu P et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors in adults after the Mustard procedure. *Am J Cardiol*. **2001**;87:660–663, A11.

Hegarová M, Málek I, Jabor A. Vztah BNP k výsledku spiroergometrie u nemocných s chronickým srdečním selháním. XVI. Výroční sjezd ČKS, Brno **2008**. Medical Tribune CZ. Abstr. s. 17.

Hegarová M, Lupínek P, Jabor A et al. Relationship between BNP level dynamics and myocardial reverse remodeling in patients referred as heart transplant candidates with short history of non-ischemic heart failure. 14th ESOT Congress, 30. 8- 2. 9. 2009, Paris. Abstract in: *Transplant int* **2009**;22:134.

Hegarová M. Patofyziologie chronického srdečního selhání. in Vojáček, J., Kettner, a kol. *Klinická kardiologie* 2. vyd. Hradec Králové: Nucleus HK. **2012**. s. 1134.

Hegarová M, Málek I. Možnosti ovlivnění remodelace myokardu. *Cor et Vasa* **2013**; 55(4), 454-462.

Hegarová M, Málek I, Kautzner J. Changes in the extracellular matrix during myocardial remodeling. *Curr Res Cardiol* **2015**; 2 (1): 35-39.

Hegarová M. Pokročilé srdeční selhání, kdy zvažovat transplantaci srdce. in Kautzner J, Melenovský V. *Srdeční selhání-aktuality pro klinickou praxi*. Praha. Mladá fronta a.s., **2015** ISBN:978-80-204-3573-6.

Hegarova M, Malek I, Melenovsky V et al. Contribution of left ventricle mechanical circulatory support implantation in patients with advanced heart failure in stage of cardiac cachexia. European Society of Cardiology- Heart Failure 2015 - 2nd World Congress on Acute Heart Failure 2015, 23–26 May 2015. Seville, Spain Abstract in: *European Journal of Heart Failure Abstracts Supplement* **2015**; 196.

Hegarova M, Brotanek J, Kubanek M et al. B-type natriuretic peptide: powerful predictor of endstage chronic heart failure in individuals with systolic dysfunction of the systemic right ventricle. *Croat Med J* **2016**;57:343-50.

Hersey R, Nazir M, Whitney K et al. Atrial natriuretic peptide in heart and specific binding in organs from fetal and newborn rats. *Cell Biochem Funct* **1987**;7:35–41.

Hollister AS, Rodeheffer RJ, White FJ et al. Clearance of atrial natriuretic factor by lung, liver, and kidney in human subjects and the dog. *J Clin Invest* **1989**;83: 623–628.

Holman WL, Kirklin JK, Naftel DC et al. Infection after implantation of pulsatile mechanical circulatory support device. *J Thorac Cardiovasc Surg* **2010**;139:1632-1636.

Holtwick R, van Eickels M, Sryabin BV et al. Pressure-independent cardiac hypertrophy in mice with cardiomyocyte-restricted inactivation of the atrial natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A. *J Clin Invest* **2003**. 111:1399-1407.

Horio T, Tokudome T, Maki T et al. Gene expression, secretion, and autocrine action of C-type natriuretic peptide in cultured adult rat cardiac fibroblasts. *Endocrinology* **2003**;144:2279-84.

Hunt PJ, Richards AM, Nicholls MG et al. Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment. *Clin Endocrinol (Oxf)* **1997**; 47:287–296.

Ichiki T, Huntley BK, Heublein DM et al. Corin is present in the normal human heart, kidney, and blood, with pro-B-type natriuretic peptide processing in the circulation. *Clin Chem* **2011**; 57: 40–47.

Inoue S, Murakami Y, Sano K et al. Atrium as a source of brain natriuretic polypeptide in patients with atrial fibrillation. *J Card Fail* **2000**;6:92–96.

Ishizaka Y, Kangawa K, Minamino N et al. Isolation and identification of C-type natriuretic peptide in human myocytic cell line, THP-1. *Biochem Biophys Res Commun* **1992**;189:697-704.

Itoh T, Nagaya N, Murakami S et al. C-type natriuretic peptide ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med* **2004**;170: 1204–1211.

Jannuzzi JL, Van Kimmenade R, Lainchbury J et al. NT-pro BNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure: an international pooled analysis of 1256 patients. *Eur Heart J* **2006**;27:330–337.

Jensen KT, Eiskjaer H, Carstens J, Pedersen EB. Renal effects of brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Clin Sci* **1999**;96:5–15.

Kapoun AM, Liang F, O'Young G et al. B-type natriuretic peptide exerts broad functional opposition to transforming growth factor-beta in primary human cardiac fibroblasts: fibrosis, myofibroblast conversion, proliferation, and inflammation. *Circ Res* **2004**, 94:453–461.

Kawakami R, Saito Y, Kishimoto I et al. Overexpression of brain natriuretic peptide facilitates neutrophil infiltration and cardiac matrix metalloproteinase-9 expression after acute myocardial infarction. *Circulation* **2004**;110: 3306–12.

Kemperman H, van den Berg M, Kirkels H, de Jonge N. B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal proBNP in patients with end-stage heart failure supported by a left ventricular assist device. *Clin Chem* **2004**;50:1670–2.

Kenny AJ, Bourne A, Ingram J. Hydrolysis of human and pig brain natriuretic peptides, urodilatin, C-type natriuretic peptide and some C-receptor ligands by endopeptidase-24.11. *Biochem J* **1993**;291: Pt 1 83–88.

Ketchum ES, Levy WC. Establishing Prognosis in Heart failure: A Multimarker Approach. *Prog Cardiovasc Dis* **2011**;54: 86-96.

Kinnunen P, Vuolteenaho O, Ruskoaho H. Mechanism of the atrial and brain natriuretic peptide release from rat ventricular myocardium: effect of stretching. *Endocrinology* **1993**;132:1691–1970.

Kirklin JK, Naftel DC, Stevenson LW et al. INTERMACS database for durable devices for circulatory support: first annual report. *J Heart Lung Transplant* **2008**; 27: 1065–72.

Kirklin JK, Naftel DC, Pagani FD et al. Seventh INTERMACS annual report: 15,000 patients and counting Seventh INTERMACS. *J Heart Lung Transplant* **2015**;34:1495-1504.

Kishimoto I, Rossi K, Garbers DL. A genetic model provides evidence that the receptor for atrial natriuretic peptide (guanylyl cyclase-A) inhibits cardiac ventricular myocyte hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* **2001**;98, 2703–2706.

Knebel F, Schimke I, Pliet K et al. NT-proBNP in acute heart failure: Correlation with invasively measured hemodynamic parameters during recompensation. *J Card Fail* **2005**;11(5): S38 – S41.

Knowles JW, Esposito G, Mao L et al. Pressure-independent enhancement of cardiac hypertrophy in natriuretic peptide receptor A-deficient mice. *J Clin Invest* **2001**; 107, 975–984.

Koch AM, Zink S, Singer H. B-type natriuretic peptide in patients with systemic right ventricle. *Cardiology* **2008**;110(1): 1-7.

Kociol RD, Horton JR, Fonarow GC et al. Admission, discharge, or change in B-type natriuretic peptide and long-term outcomes: data from Organized Program to Initiate Lifesaving Treatment in Hospitalized Patients with Heart Failure (OPTIMIZE-HF) linked to Medicare claims. *Circ Heart Fail* **2011**;4:628–36.

Koller K, Lipari T, Goeddel DV. Proper glycosylation and phosphorylation of the type A natriuretic peptide receptor are required for hormone-stimulated guanylyl cyclase activity. *J Biol Chem* **1993**;268:5997–6003.

Konstam MA, Rousseau MF, Kronenberg MW et al. Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on the long-term progression of left ventricular dysfunction in patients with heart failure. *Circulation* **1992**;86:431-438.

Koželj M, Cvijić M, Berden P, Podnar T. A6-year follow-up study of adult patients with congenitally corrected transposition. *Cardiol Young* **2015**;25:1332-9.

Kretzschmar M, Doody J, Timokhina I, Massague J. A mechanism of repression of TGF /Smad signaling by oncogenic Ras. *Genes Dev* **1999**; 13:804–816.

Kubánek M, Málek I, Kautzner J et al. The value of B-type natriuretic peptide and big endothelin-1 for detection of severe pulmonary hypertension in heart transplant candidates. *Eur J Heart Fail* **2005** Dec;7(7):1149-55.

Kubanek M, Sramko M, Maluskova J et al. Novel predictors of left ventricular reverse remodeling in individuals with recent-onset dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **2013** Jan 8;61(1):54-63.

Kuhn M, Voss M, Mitko D et al. Left ventricular assist device support reverses altered cardiac expression and function of natriuretic peptides and receptors in end-stage heart failure. *Cardiovasc Res* **2004**;64:308–314.

Kuhn M. Structure, regulation and function of mammalian membran guanylyl cyclase receptors, with focus on GC-A. *Circ Res* **2003**;93:700 – 9.

Lachance D, Garcia R, Gutkowska J et al. Mechanisms of release of atrial natriuretic factor. I. Effect of several agonists and steroids on its release by atrial minces. *Biochem Biophys Res Commun* **1986**; 135:1090–1098.

Lafontan M, Moro C, Berlan M et al. Control of lipolysis by natriuretic peptides and cyclic GMP. *Trends Endocrinol Metab* **2008**; 19:130-137.

Lamba S, Abraham WT. Alterations in adrenergic receptor signaling in heart failure. *Heart Fail Rev* **2000**; 1:7–16.

Lang CC, Motwani JG, Coutie WJ, Struthers AD. Clearance of brain natriuretic peptide in patients with chronic heart failure: indirect evidence for a neutral endopeptidase mechanism but against an atrial natriuretic peptide clearance receptor mechanism. *Clin Sci (Colch)* **1992**; 82:619–623.

Lang CC, Coutie WJ, Khong TK et al. Dietary sodium loading increases plasma brain natriuretic peptide levels in man. *J Hypertens* **1991**;9:779–782.

Lang CC, Choy AM, Turner K et al. The effect of intravenous saline loading on plasma levels of brain natriuretic peptide in man. *J Hypertens* **1993**;11:737–741.

Lang RM, Bierig M, Devereux RB et al. Recommendations for chamber quantification. *J Am Soc Echocardiogr* **2005**;18:1440-63.

Larsson DA, Meurling CJ, Holmqvist F et al. The diagnostic and prognostic value of brain natriuretic peptides in adults with a systemic morphologically right ventricle or Fontan-type circulation. *Int J Cardiol* **2007**; 114 (3): 345–51.

Lean A, Racz K, Gutkowska J et al. Specific receptor-mediated inhibition by synthetic atrial natriuretic factor of hormone-stimulated steroidogenesis in cultured bovine adrenal cells. *Endocrinology* **1984**;115, 1636–1638.

Levy WC, Mozaffarian D, Linker DT et al. The Seattle Heart Failure Model: prediction of survival in heart failure. *Circulation* **2006**; 113:1424-33.

Li YY, Feng Y, McTiernan CF et al. Downregulation of matrix metalloproteinases and reduction in collagen damage in the failing human heart after support with left ventricular assist devices. *Circulation* **2001**;104:1147–52.

Liang F, O'Rear J, Schellenberger U et al. Evidence for functional heterogeneity of circulating B-type natriuretic peptide. *J Am Coll Cardiol* **2007**; 49:1071–1078.

Light DB, Corbin JD, Stanton BA. Dual ion-channel regulation by cyclic GMP and cyclic GMP-dependent protein kinase. *Nature* **1990**;344:336–339.

Lin CY, Lin CJ, Chen CH et al. The secondary heart field is a new site of calcineurin/Nfatc1 signaling for semilunar valve development. *J Mol Cell Biol* **2012**;52:1096–1102.

Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation : Thirty-second official adult heart transplantation report - 2015; Focus theme : Early graft failure. *J Heart Lung Transplant* **2015**;34: 1244–1254.

Maack T, Suzuki M, Almeida FA et al. Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science* **1987**; 238:675–678.

Maack T. Receptors of atrial-natriuretic-factor. *Annu Rev Physiol* **1992**; 54:11–27.

Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak R et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* **2002**;347:161–167.

Maisel AS, Mc Cord J, Nowak R et al. Bedside B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure with reduced or preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* **2003**;41:2010–2017.

Málek I, Hegarová M. Ovlivnění koncentrace BNP v krvi léčebnými postupy srdečního selhání. *Cor Vasa* **2009**;51(6):419–424.

Mangat H, de Bold AJ. Stretch-induced atrial natriuretic factor release utilizes a rapidly depleting pool of newly synthesized hormone. *Endocrinology* **1993**;133:1398–1403.

Mäntymaa P, Vuolteenaho O, Marttila M, Ruskoaho H. Atrial stretch induces rapid increase in brain natriuretic peptide but not in atrial natriuretic peptide gene expression in vitro. *Endocrinology* **1993**;133:1470–1473.

Matheussen V, Baerts L, De Meyer G et al., Expression and spatial heterogeneity of dipeptidyl peptidases in endothelial cells of conduct vessels and capillaries. *Biol Chem* **2011**;392: 189–198.

Marin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M. Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilatation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature* **1986**;324:473–476.

Maxwell BG, Wong JK, Sheikh AY et al. Heart transplantation with or without prior mechanical circulatory support in adults with congenital heart disease. *Eur J Cardiothorac Surg* **2014** ;45:842–846.

McClean DR, Ikram H, Mehta S et al. Omapatrilat Hemodynamic Study Group. Vasoepitidase inhibition with omapatrilat in chronic heart failure: acute and long-term hemodynamic and neurohumoral effects. *J Am Coll Cardiol* **2002**;39:2034–2041.

McIlvennan CK, Magid KH, Ambardekar AV et al. Clinical Outcomes Following Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device: A Systematic Review. *Circ Heart Fail* **2014**;7:1003–1013.

McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* **2012**; 14, 803–869

Mehra MR, Uber PA, Park MH et al. Obesity and suppressed B-type natriuretic peptide levels in heart failure. *J Am Coll Cardiol* **2004**;43(9):1590–5.

Mehra MR, Stewart GC, Uber PA. The vexing problem of thrombosis in long-term mechanical circulatory support. *J Heart Lung Transplant* **2014**;33:1–11.

Melenovsky V, Al-Hiti H, Kazdova L et al. Transpulmonary B-type natriuretic peptide uptake and cyclic guanosine monophosphate release in heart failure and pulmonary hypertension: the effects of sildenafil. *J Am Coll Cardiol* **2009**;54(7):595–600.

Miller VL, Phelps MA, Wood CM et al., Comparison of mass spectrometry and clinical assay measurements of circulating fragments of B-type natriuretic peptide in patients with chronic heart failure. *Circ Heart Fail* **2011**;4:355–360.

Milting H, Ellinghaus P, Seewald M et al. Plasma biomarkers of myocardial fibrosis and remodeling in terminal heart failure patients supported by mechanical circulatory support devices. *J Heart Lung Transplant* **2008**;27:589-96.

Mishra S, Gusta RC, Tiwari N, et al. Molecular Mechanisms of Reduced Sarcoplasmic Reticulum Ca^{2+} Uptake in Human Failing Left Ventricular Myocardium. *J Heart Lung Transplant* **2002**;21:366-373.

Mishra S, Sabbah HN, Rastogi S et al. Reduced sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} uptake and increased Na^{+} - Ca^{2+} exchanger expression in left ventricle myocardium of dogs with progression of heart failure. *Heart Vessels* **2005**;20:23-32.

Moro C, Crampes F, Sengenès C et al. Atrial natriuretic peptide contributes to physiological control of lipid mobilization in humans. *FASEB J* **2004**;18:908-910.

Muller D, Baumeister H, Buck F, Richter D. Atrial natriuretic peptide (ANP) is a high-affinity substrate for rat insulin-degrading enzyme. *Eur J Biochem* **1991**;202: 285–292.

Murakami Y, Shimada T, Inoue S et al. New insights into the mechanism of the elevation of plasma brain natriuretic polypeptide levels in patients with left ventricular hypertrophy. *Can J Cardiol* **2002**;18:1294–1300.

Murdoch DR, Byrne J, Morton JJ et al. Brain natriuretic peptide is stable in whole blood and can be measured using a simple rapid assay: implications for clinical practice. *Heart* **1997**;78:594–597.

Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H et al. Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an “emergency” cardiac hormone against ventricular overload. *J Clin Invest* **1995**;96:1280 - 7.

Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. I. Natriuretic peptides. *J Hypertens* **1992**;10: 907–912.

Nakayama K. Furin: a mammalian subtilisin/Kex2p-like endoprotease involved in processing of a wide variety of precursor proteins. *Biochem J* **1997**;327: 625–635.

Nakamura M, Arakawa N, Yoshida H et al. Vasodilatory effects of C-type natriuretic peptide on forearm resistance vessels are distinct from those of atrial natriuretic peptide in chronic heart failure. *Circulation* **1994**;90:1210–1214.

Nakamura M, Arakawa N, Yoshida H et al. Vasodilatory effects of B-type natriuretic peptide are impaired in patients with chronic heart failure. *Am Heart J* **1998**;135:414–420.

Niederkofler EE, Kiernan UA, O'Rear J et al. Detection of endogenous B-type natriuretic peptide at very low concentrations in patients with heart failure. *Circ Heart Fail* **2008**;1 :258–264.

Nikolaou M, Parissis J, Yilmaz MB et al. Liver function abnormalities, clinical profile, and outcome in acute decompensated heart failure. *Eur Heart J* **2013**;34:742-749.

Nishikimi ET, Maeda N, Matsuoka H. The role of natriuretic peptides in cardioprotection. *Cardiovasc Res* **2006**, 69:318–328.

Nishikimi T, Inaba-Iemura C, Ishimura K et al. Natriuretic peptide/natriuretic peptide receptor-A (NPR-A) system has inhibitory effects in renal fibrosis in mice. *Regul Pept* **2009**;154:44–53.

Nishikimi T, Minamino N, Ikeda M et al. Diversity of molecular forms of plasma brain natriuretic peptide in heart failure— different proBNP-108 to BNP-32 ratios in atrial and ventricular overload. *Heart* **2010**; 96: 432–439.

Norozi K, Buchhorn R, Wessel A et al. Beta-blockade does not alter plasma cytokine concentrations and ventricular function in young adults with right ventricular dysfunction secondary to operated congenital heart disease. *Circ J* **2008**;72:747–752.

O'Connor CM, Starling RC, Hernandez AF et al. Effect of nesiritide in patients with acute decompensated heart failure. *N Engl J Med* **2011**;365:32-43.

Ogawa T, Linz W, Stevenson M et al. Evidence for load-dependent and load-independent determinants of cardiac natriuretic peptide production. *Circulation* **1996**;93:2059–2067.

Ogawa Y, Mukoyama M, Yokoi H et al. Natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A protects podocytes from aldosterone-induced glomerular injury. *J Am Soc Nephrol* **2012**;23:1198–209.

Opie LH, Knuuti J. The adrenergic-fatty acid load in heart failure. *J Am Coll Cardiol* **2009**;54:1637-1646.

Pandey KN, Nguyen HT, Li M, Boyle JW. Natriuretic peptide receptor-A negatively regulates mitogen-activated protein kinase and proliferation of mesangial cells: role of cGMP-dependent protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun* **2000**; 271:374- 379.

Packer M, Califf RM, Konstam MA et al. Comparison of omapatrilat and enalapril in patients with chronic heart failure: the Omapatrilat Versus Enalapril Randomized Trial of Utility in Reducing Events (OVERTURE). *Circulation* **2002**;106:920–926.

Packer M, McMurray JJ, Desai AS et al. PARADIGM-HF Investigators and Coordinators. Angiotensin receptor neprilysin inhibition compared with enalapril on the risk of clinical progression in surviving patients with heart failure. *Circulation* **2015**;131: 54–61.

Pandey KN. Biology of natriuretic peptides and their receptors. *Peptides* **2005**; 26:901–932.

Patel KP, Zhang PL, Carmines PK. Neural influences on renal responses to acute volume expansion in rats with heart failure. *Am J Physiol* **1996**;271:H1441–H1448.

Patel ND, Weiss ES, Allen JG et al. Heart transplantation for adults with congenital heart disease: analysis of the United Network for Organ Sharing database. *Ann Thorac Surg* **2009**;88:814–22.

Peng E, O'Sullivan JJ, Griselli M et al. Durable ventricular assist device support for failing systemic morphologic right ventricle: early results. *Ann Thorac Surg* **2014**; 98(6):2122-9.

Philipp S, Monti J, Pagel I et al. Treatment with darusentan over 21days improved cGMP generation in patients with chronic heart failure. *Clin Sci (Lond)* **2002**;103(Suppl 48):249S–253S.

Piran S, Veldtman G, Siu S et al. Heart failure and ventricular dysfunction in patients with single or systemic right ventricles. *Circulation* **2002**;105:1189-94.

Polak J, Kotrc M, Wedellova Z et al. Lipolytic effects of B-type natriuretic peptide 1-32 in adipose tissue of heart failure patients compared with healthy controls. *J Am Coll Cardiol*; **2011**: 58 1119–1125.

Ponikowski P, Voors AA, Anker SD et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* **2016**; 37 (27): 2129-2200.

Popelová J. Vrozené srdeční vady v dospělosti. Grada Publishing a.s. **2003**. ISBN 80-247-0451-X.

Porter JG, Arfsten A, Fuller F et al. Isolation and functional expression of the human atrial natriuretic peptide clearance receptor cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* **1990**;171:796–803.

Qian X, Moss NG, Fellner RC, Goy MF. Circulating prouroguanylin is processed to its active natriuretic form exclusively within the renal tubules. *Endocrinology* **2008**; 149: 4499–4509.

Quinones MA, Otto CM, Stoddard W et al. Recommendations for quantification of Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* **2002**;15:167-84.

Raedle-Hurst TM, Hosse M, Abdul-Khaliq H. Serial measurement of the N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) predicts poor outcome in a patient with congenitally corrected transposition of the great arteries (ccTGA). *Eur J Heart Fail* **2010**;12:521-3.

Ralat LA, Guo Q, Ren M et al. Insulin-degrading enzymemodulates the natriuretic peptide-mediated signaling response. *J Biol Chem* 2011; 286:4670–4679.

Rice GI, Thomas DA, Grant PJ et al. Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism. *Biochem J* **2004**;383:45–51.

Roques BP, Noble F, Dauge V et al. Neutral endopeptidase 24.11: structure, inhibition, and experimental and clinical pharmacology. *Pharmacol Rev* **1993**; 45:87–146.

Rouleau JL, Pfeffer MA, Stewart DJ et al. Comparison of vasopeptidase inhibitor, omapatrilat, and lisinopril on exercise tolerance and morbidity in patients with heart failure: IMPRESS randomised trial. *Lancet* **2000**;356:615–620.

Ruskoaho H, Kinnunen P, Taskinen T et al. Regulation of ventricular atrial natriuretic peptide release in hypertrophied rat myocardium. Effects of exercise. *Circulation* **1989**; 80:390–400.

- Ruskoaho H.** Atrial natriuretic peptide: synthesis, release, and metabolism. *Pharmacol Rev* **1992**;44: 479–602.
- Ruskoaho H.** Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocrine Reviews* **2003**;24:341–356.
- Sackner-Bernstein JD,** Skopicki HA, Aaronson KD. Risk of worsening renal function with nesiritide in patients with acutely decompensated heart failure. *Circulation* **2005**;111:1487-1491.
- Sackner-Bernstein JD,** Kowalski M, Fox M, Aaronson K. Short-term risk of death after treatment with nesiritide for decompensated heart failure. A pooled analysis of randomized controlled trials. *JAMA* **2005**;293:1900-1905.
- Sabrane K,** Kruse MN, Fabritz L et al. Vascular endothelium is critically involved in the hypotensive and hypovolemic actions of atrial natriuretic peptide. *J Clin Invest* **2005**;115:1666-1674.
- Saito Y,** Nakao K, Itoh H et al. Brain natriuretic peptide is a novel cardiac hormone. *Biochem Biophys Res Commun* **1989**;158: 360–368.
- Sarzani R,** Strazzullo P, Salvi F et al. Natriuretic peptide clearance receptor alleles and susceptibility to abdominal adiposity. *Obesity research* **2004**; 12(2): 351-356.
- Sato T,** Seguchi O, Iwashima Y et al. Serum brain natriuretic peptide concentration 60 days after surgery as a predictor of long-term prognosis in patients implanted with a left ventricular assist device. *ASAIO Journal* **2015**; 61:373–8.
- Schmitt M,** Gunaruwan P, Payne N et al. Effects of exogenous and endogenous natriuretic peptides on forearm vascular function in chronic heart failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2004**;24:911–917.
- Schröter J,** Zahedi RP, Hartmann M et al. Homologous desensitization of guanylyl cyclase A, the receptor for atrial natriuretic peptide, is associated with a complex phosphorylation pattern. *FEBS J* **2010**;277:2440–2553.
- Semenov AG,** Tamm NN, Seferian KR et al. Processing of pro-B-type natriuretic peptide: furin and corin as candidate convertases. *Clin Chem* **2010**;56:1166–1176.
- Sengenès C,** Berlan M, de Glisezinski I et al. Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J* **2000**;14:1345-1351.
- Sengenès C,** Zakaroff-Girard A, Moulin A et al. Natriuretic peptide-dependent lipolysis in fat cells is primate specificity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **2002**;283:R257-R265.
- Sengenès C,** Bouloumie A, Hauner H et al. Involvement of a cGMP-dependent pathway in the natriuretic peptide-mediated hormone-sensitive lipase phosphorylation in human adipocytes. *J Biol Chem*, **2003**; 278: 48617–4826.
- Singh G,** Kuc RE, Maguire JJ et al. Novel snake venom ligand dendroaspis natriuretic peptide is selective for natriuretic peptide receptor-A in human heart: downregulation of natriuretic peptide receptor-A in heart failure. *Circ Res* **2006**;99:183–190.
- Sodian R,** Loebe M, Schmitt C et al. Decreased plasma concentration of brain natriuretic peptide as a potential indicator of cardiac recovery in patients supported by mechanical circulatory assist systems. *J Am Coll Cardiol* **2001**;38:1942–9.
- Soualmia H,** Barthelemy C, Masson F et al. Angiotensin II-induced phosphoinositide production and atrial natriuretic peptide release in rat atrial tissue. *J Cardiovasc Pharmacol* **1997**;29:605–611.
- Sosa RE,** Volpe M, Marion DN et al. Relationship between renal hemodynamic and natriuretic effects of atrial natriuretic factor. *Am J Physiol* **1986**;250(3 Pt 2): F520–F524.
- Stasch JP,** Hirth-Dietrich C, Kazda S, Neuser D. Endothelin stimulates release of atrial natriuretic peptides in vitro and in vivo. *Life Sci* **1989**;45:869–875.
- Stevenson LW,** Pagani FD, Young JB et al. INTERMACS Profiles of Advanced Heart Failure: The Current Picture. *J Heart Lung Transplant* **2009**; 28: 535–41.
- Stingo AJ,** Clavell AL, Heublein DM et al. Presence of C-type natriuretic peptide in cultured human endothelial cells and plasma. *Am J Physiol* **1992**;263: H1318 - H1321.
- Sudoh T,** Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* **1998**;332: 78–81.

Suga S, Nakao K, Itoh H et al. Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor- β ; Possible existence of vascular natriuretic peptide system. *J Clin Invest* **1992**;90: 1145–1149.

Sugawara A, Nakao K, Morii N et al. Synthesis of atrial natriuretic polypeptide in human failing hearts. Evidence for altered processing of atrial natriuretic polypeptide precursor and augmented synthesis of beta-human ANP. *J Clin Invest* **1998**;81: 1962–1970.

Takahashi T, Allen PD, Izumo S. Expression of A-, B-, and C-type natriuretic peptide genes in failing and developing human ventricles. *Circ Res* **1992**;71:9–17.

Tamura N, Ogawa Y, Chusho H et al. Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2000**. 97:4239-4244.

Thibault G, Nemer M, Drouin J et al. Ventricles as a major site of atrial natriuretic factor synthesis and release in cardiomyopathic hamsters with heart failure. *Circ Res* **1989**;65:71–82.

Togashi K, Kameya T, Kurosawa T et al. Concentrations and molecular forms of C-type natriuretic peptide in brain and cerebrospinal fluid. *Clin Chem* **1992**;38: 2136–2139.

Tokudome T, Horio T, Soeki T et al. Inhibitory effect of C-type natriuretic peptide (CNP) on cultured cardiac myocyte hypertrophy: interference between CNP and endothelin-1 signaling pathways *Endocrinology* **2004**;145:2131-2140.

Tokudome T, Horio T, Kishimoto I et al. Calcineurin–nuclear factor of activated T cells pathway–dependent cardiac remodeling in mice deficient in guanylyl cyclase a, a receptor for atrial and brain natriuretic peptides. *Circulation* **2005**; 111(23): 3095-3104.

Tonne JM, Campbell JM, Cataliotti A et al. Secretion of glycosylated pro-B-type natriuretic peptide from normal cardiomyocytes. *Clin Chem* **2011**; 57: 864–873.

Totsune K, Takahashi K, Ohneda M et al. C-type natriuretic peptide in the human central nervous system: distribution and molecular form. *Peptides* **1994**;15: 37–40.

Tousoulis D, Antonopoulos AS, Antoniadis CH. Role of depression in heart failure - Choosing the right antidepressive treatment. *Int J Cardiol* **2010**; 140: 12–18.

Tripathi S, Pandey KN. Guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A signaling antagonizes the vascular endothelial growth factor-stimulated MAPKs and downstream effectors AP-1 and CREB in mouse mesangial cells. *Mol Cell Biochem* **2012**;368:47–59.

Tsai SH, Lin YY, Chu SJ et al. Interpretation and use of natriuretic peptides in non-congestive heart failure settings. *Yonsei Med J* **2000**; 51(2):151-63.

Tsuruda T, Boerrigter G, Huntley BK et al. Brain natriuretic Peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. *Circ Res* **2002**;91:1127–34.

Uriel N, Morrison KA, Garan AG et al. Development of a novel echocardiography ramp test for speed optimization and diagnosis of device thrombosis in continuous-flow left ventricular assist devices. *J Am Coll Cardiol* **2012**; 60: 1764-75.

Uriel N, Han J, Morrison KA et al. Device thrombosis in Heart Mate II continuous-flow left ventricular assist devices: A multifactorial phenomenon. *J Heart Lung Transplant* **2014**;33:51–59.

Van der Bom T, Winter MM, Bouma BJ et al. Effect of valsartan on systemic right ventricular function: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot trial. *Circulation* **2013**;127:322–330.

Vanderheyden M, Bartunek J, Goethals M. Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects. *Eur J Heart Fail* **2004**;6:261 – 8.

Vanneste Y, Michel A, Dimaline R et al. Hydrolysis of alpha-human atrial natriuretic peptide in vitro by human kidney membranes and purified endopeptidase-24.11. Evidence for a novel cleavage site. *Biochem J* **1988**;254: 531–537.

Volpe M, Lembo G, Condorelli G et al. Converting enzyme inhibition prevents the effects of atrial natriuretic factor on baroreflex responses in humans. *Circulation* **1990**;82, 1214–1221.

Volpe M, Carnovali M, Mastromarino V. The natriuretic peptides system in the pathophysiology of heart failure: from molecular basis to treatment. *Clinical Science* **2016**;130,57–77.

von Haehling S, Schefold JC, Lainscak M et al. Inflammatory biomarkers in heart failure revisited: much more than innocent bystanders. *Heart Fail Clin* **2009**; 5:549-560.

Waldo SW, Beede J, Isakson S et al. Pro-B-type natriuretic peptide levels in acute decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2008;51: 1874–1882.

- Warnes CA**. Transposition of the great arteries. *Circulation* **2006**;114:2699-709.
- Watson CJ**, Phelan D, Xu M et al. Mechanical stretch up-regulates the B-type natriuretic peptide system in human cardiac fibroblasts: a possible defense against transforming growth factor- β mediated fibrosis. *Fibrogenesis & Tissue Repair* **2012**; 5 (9):1-10.
- Wei CM**, Heutlein DM, Perrella MA et al. Natriuretic peptide system in human heart failure. *Circulation* **1993**; 88:1004–1009.
- Wilcox JN**, Augustine A, Goeddel DV, Lowe DG. Differential regional expression of three natriuretic peptide receptor genes within primate tissues. *Mol Cell Biol* **1991**;11:3454–3462.
- Wilson NJ**, Clarkson PM, Barratt-Boyes BG et al. Long-term outcome after the Mustard repair for simple transposition of the great arteries: 28-years follow-up. *J Am Coll Cardiol* **1998**;32:758 – 765.
- Wohlschlaeger J**, von Winterfeld M, Milting H et al. Decreased myocardial chromogranin A expression and colocalization with brain natriuretic peptide during reverse cardiac remodeling after ventricular unloading. *J Heart Lung Transplant* **2008**;27:442–9.
- Yan W**, Wu F, Morser J, Wu Q. Corin, a transmembrane cardiac serine protease, acts as a pro-atrial natriuretic peptide-converting enzyme *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2000**;97: 8525–8529.
- Yancy CW**, Jessup M, Bozkurt B et al. ACCF/AHA Guidelines for the Management of Heart Failure A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* **2013**;128:e240-e327.
- Yandle TG, Richards AM**. B-type natriuretic peptide circulating forms: analytical and bioactivity issues. *Clin Chim Acta* **2015**;448:195–205.
- Yasue H**, Obata K, Okumura K et al. Increased secretion of atrial natriuretic polypeptide from the left ventricle in patients with dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest* **1989**; 83:46–51.
- Yasue H**, Yoshimura M, Sumida H et al. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* **1994**; 90: 195–203.
- Yeung VT**, Ho SK, Nicholls MG, Cockram CS. Binding of CNP-22 and CNP-53 to cultured mouse astrocytes and effects on cyclic GMP. *Peptides* **1996**;17: 101–106.
- Yoshimoto T**, Naruse M, Naruse K et al. Angiotensin II-dependent down-regulation of vascular natriuretic peptide type C receptor gene expression in hypertensive rats. *Endocrinology* **1996**;13:102–1107.

Přílohy:

Publikace in extenso, které jsou podkladem disertace:

Hegarova M, Brotanek J, Kubanek M, Kockova R, Franekova J, Lanska V, Netuka I, Melenovsky V, Malek I, Kautzner J. B-type natriuretic peptide: powerful predictor of endstage chronic heart failure in individuals with systolic dysfunction of the systemic right ventricle. *Croat Med J* 2016;57:343-50. (IF 1.483)

Hegarova M, Kubanek M, Netuka I, Maly J, Dorazilova Z, Gazdic T, Franekova J, Lanska V, Melenovsky V, Kautzner J, Malek I. Clinical correlates of B-type natriuretic peptide monitoring in outpatients with left ventricular assist device. *Biomed Pap* 2017;161: in press <https://doi.org/10.5507/bp.2017.003> (IF 0,924)

